

PATRÍCIA APPELT*

**COMPLEXOS DE RUTÊNIO (II) CONTENDO LIGANTES N-S DOADORES:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, REATIVIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Química pelo Programa de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná.

Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientador: **Prof. Dr. Márcio Peres de Araujo**

*Bolsista CAPES

Curitiba / 2013.

A646c

Appelt, Patrícia

Complexos de rutênio (II) contendo ligantes N-S doadores: síntese, caracterização, reatividade e atividade biológica / Patrícia Appelt. – Curitiba, 2013.

91 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.

Orientador: Márcio Peres de Araujo .

Bibliografia: p. 86-91.

1. Compostos de rutênio. 2. Ligantes (Bioquímica). 3. Reatividade (Química). I. Universidade Federal do Paraná. II. Araujo, Márcio Peres de. III. Título.

CDD: 546.632

TERMO DE APROVAÇÃO


COMPLEXOS DE RUTÊNIO (II) CONTENDO LIGANTES N-S DOADORES: SÍNTESE,
CARACTERIZAÇÃO, REATIVIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA.

por

PATRÍCIA APPELT

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,
pela Comissão Examinadora composta por:


Orientador:



Prof. Dr. Márcio Peres de Araujo
Dep. de Química – UFPR



Dr. Fábio Batista do Nascimento
SINC DO BRASIL



Prof.ª Dr.ª Giovana Gioppo Nunes
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 26 de julho de 2013

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Márcio Peres de Araújo pela orientação, amizade e por ter acreditado de alguma forma em mim.

Aos Professores Dra. Giovana G. Nunes e ao Dr. Fábio B. do Nascimento pelo aceite em participar da comissão examinadora e pelas correções da dissertação.

Aos Professores Dra. Giovana G. Nunes e ao Prof. Dr. Flávio M. Matsumoto pelas sugestões na qualificação.

À Capes pela bolsa de mestrado e pelo convênio CAPES/UDELAR, o qual possibilitou a realização do intercâmbio no Uruguai.

À UFPR, ao Departamento de Química e ao PPG-Q pela disponibilização da infraestrutura, que possibilitou a realização deste trabalho.

Às Professoras Gianella Facchin e Maria Gabriela Kramer pela orientação, aprendizado e amizade durante o intercâmbio na cidade de Montevideo.

Ao Professor Dr. Mário A. A. da Cunha pelas cepas de bactérias e pelo apoio que nunca faltou desde a graduação. A amiga e técnica de laboratório da UTFPR, campus Pato Branco, Roberta Roncatti pela ajuda nas análises antibacterianas.

À Bianca Sandrino pelas análises de voltametria cíclica e pela amizade.

Aos amigos de laboratório, Chico, Lucas, Juliana, Otávio, e Santina por terem compartilhado conhecimento, amizade e momentos de descontração nesses dois anos.

Aos meus pais, Edson e Marta, ao meu irmão Ricardo e a minha avó Maria Iracema os quais sempre me apoiaram e me deram amor.

Às minhas amigas Camila e Cristina, pela compreensão em momentos difíceis, pela amizade, pela alegria e o carinho que compartilhamos.

As minhas amigas Cristiane, Eliza, Edione, Lilian, Marília, Amanda e ao meu amigo Thiago os quais são de suma importância em minha vida, obrigada por todo o apoio.

A todos os meus professores e amigos de Pato Branco.

Aos meus amigos do Uruguai, Natali, Gonzalo, Carol, Natalia, Monica e Javier, por todos os momentos agradáveis e por me acolheram muito bem em seu país.

Aos colegas do grupo de Inorgânica Aplicada e as amigas do Labpam.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do complexo cis-diaminodicloroplatina II – Cisplatina.	16
Figura 2 - Análogos da cisplatina ¹¹	17
Figura 3 - Estrutura do complexo BBR3464 ¹⁶	18
Figura 4- Estrutura dos compostos NAMI-A e KP1019.	19
Figura 5 - Esquema da ação do complexo KP1019 ³	20
Figura 6 - Estrutura geral dos complexos RAPTA ²	21
Figura 7 – Estrutura do complexo $[Ru^{II}(\eta^6\text{-areno})(en)X]^+ 5$	21
Figura 8- Estrutura do complexo $[RuCl(CQ)]_2$ ³²	22
Figura 9 – Estrutura do complexo $[RuCl_2(CTZ)_2]$	23
Figura 10 - Estrutura do complexo de Ru (III) e seus substituintes ³⁶	24
Figura 11 - Ligantes N-S: heterocíclicos (a) e (b); não cíclico (c).	25
Figura 12 – Representação do grupamento tiazolínico: (a) com e (b) sem insaturação na posição 4.	25
Figura 13 - Formas tautoméricas para o ligante 2-mercaptotiazolina.	26
Figura 14- Representação da formação do ânion gerando uma maior disponibilidade de coordenação. ⁴⁸	26
Figura 15 - Modos de coordenação de ligantes N-S. ^{47a}	27
Figura 16 - Formação do complexo $[Ru(SpymMe_2)(dppb)(N-N)]PF_6$. ³⁸	28
Figura 17- Ilustração das interações metal-ligante (1 – ligação σ) e (2- retrodoação π) ⁵²	28
Figura 18 - Ângulo de cone de Tolman para PR_3 ⁵²	29
Figura 19 - a) fósforo rico em elétrons (baixo valor do estiramento C-O).	29
Figura 20 - Estrutura da Auranofina ⁶	30
Figura 21- Ligantes N-S doadores utilizados.	31
Figura 23-Ilustração da formação do monóxido de carbono a partir da desidratação do ácido fórmico.	33
Figura 24 - Alça de drigalski.	37
Figura 25- Exemplos de halos de inibição ⁵⁸	38
Figura 26- Esquema geral da desprotonação dos ligantes.	40
Figura 27- Fluxograma para a síntese dos complexos.	45
Figura 28- Rota sintética utilizada para a síntese dos complexos $[Ru(N-S)_2(PPh_3)_2]$	47
Figura 29 – Sobreposição dos espectros vibracionais na região do infravermelho para o complexo $[Ru(mctz)_2(PPh_3)_2]$ e para o ligante mctz.	47

Figura 30- Sobreposição dos espectros vibracionais na região do infravermelho para o complexo $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{PPh}_3)_2]$ e para o ligante $\text{mc}btz$	48
Figura 31 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{m}ctz)_2(\text{PPh}_3)_2]$ (referência usada H_3PO_4 85%, em DCM).	49
Figura 32- Espectro de RMN de ^1H para o complexo $[\text{Ru}(\text{m}ctz)_2(\text{PPh}_3)_2]$	50
Figura 33- Sobreposição dos espectros de RMN de ^1H do ligante $\text{mc}btz$ com o complexo $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{PPh}_3)_2]$ (e a ampliação da região dos hidrogênio aromáticos do produto). ...	51
Figura 34 – Isômeros propostos para a série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$	52
Figura 35 - Representação ORTEP do complexo $[\text{Ru}(\text{m}ctz)_2(\text{PPh}_3)_2]$, com 30% de probabilidade nas elipsoides.	53
Figura 36 – Estrutura do ligante $\text{m}ctz$ com os comprimentos de ligação.	55
Figura 37 – Diagrama de empacotamento do Complexo $[\text{Ru}(\text{m}ctz)_2(\text{PPh}_3)_2]$. Os anéis aromáticos da PPh_3 e os hidrogênio foram omitidos para facilitar a visualização das interações intermoleculares.	55
Figura 38 – Rota utilizada para a síntese dos complexos $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{dppb})]$	57
Figura 39 - Sobreposição dos espectros vibracionais na região do infravermelho para o complexo $[\text{Ru}(\text{m}ctz)_2(\text{dppb})]$ e para o ligante $\text{m}ctz$	57
Figura 40 – Sobreposição dos espectros vibracionais na região do infravermelho para o complexo $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{dppb})]$ e para o ligante $\text{mc}btz$	58
Figura 41-- Espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para a série $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{dppb})]$	59
Figura 42 - Espectros de ^1H para o complexo $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{dppb})]$	60
Figura 43 - Isômeros possíveis para a série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{dppb})]$	61
Figura 44 – Rota (1) utilizada para a síntese dos complexos $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$	61
Figura 45 – Rota (2) utilizada para a síntese dos complexos $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$	61
Figura 46 – Espectro do complexo $[\text{Ru}(\text{m}ctz)_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$ (em vermelho) e do ligante livre PPh_3	64
Figura 47 - Espectro de RMN de ^1H para o complexo $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$	64
Figura 48 – Rota utilizada para a síntese dos complexos $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{N-S})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$	65
Figura 49 - Espectros vibracional na região do infravermelho dos complexos $[\text{RuCl}(\text{m}ctz)(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{RuCl}(\text{mc}btz)(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ em solução (CH_2Cl_2).....	66
Figura 50 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{m}ctz)(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$	67
Figura 51 - Espectros de RMN de ^1H dos complexos $[\text{RuCl}(\text{m}ctz)(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ (em azul) e $[\text{RuCl}(\text{mc}btz)(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ (em vermelho).	68
Figura 52 – Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{m}ctz)(\text{PPh}_3)_2]$	70

Figura 53 - Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$	71
Figura 54 - Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do precursor e do produto	72
Figura 55 - Espectro vibracional na região do infravermelho, sobreposição dos complexos $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)]$	72
Figura 56 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do produto da reação $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)]$ com CO.	73
Figura 57 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o teste de reatividade do complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ em DMSO.	75
Figura 58 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o teste de reatividade do complexo	75
Figura 59 - Complexos estudados nos testes de citotoxicidade in vitro.....	76
Figura 60 - Gráfico da porcentagem de viabilidade de células HeLa vivas.....	77
Figura 61 - Gráfico da porcentagem de viabilidade de células MCF-7 vivas.	78
Figura 62 – Gráfico da porcentagem de viabilidade de células A458 vivas.	79
Figura 63 - Atividade antimicrobiana de compostos reportados por C.S.Allardyce [36].	83
Figura 64 - Foto do Halo de inibição do complexo $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ em bactérias de B. Subtilis na concentração de 0,5% (metodologia 2).	84
Figura 65 - do Halo de inibição da gentamicina (controle +) em bactérias E.Coli.	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Dados de análise elementar (%C, H, N e S) obtidos de alguns complexos sintetizados.....	46
Tabela 2- Atribuição dos principais estiramentos observados para a série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$	48
Tabela 3 - Dados cristalográficos e refinamento para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$	52
Tabela 4 - Principais distância de ligação para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$	54
Tabela 5 - Ângulos de ligação para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$	54
Tabela 6 – Comprimentos de Ligações.....	55
Tabela 7 – Comparação entre distâncias de ligação (Å) e ângulos do complexo (3) $[\text{Ru}(\text{mctz})(\text{PPh}_3)_2]$ com trabalhos da literatura.....	56
Tabela 8 - Atribuição dos principais estiramentos observados para a série de complexos da série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{dppb})_2]$ (valores em cm^{-1})	58
Tabela 9 - Atribuições dos principais estiramentos observados para a série de complexos da série $[\text{Ru}(\text{N-S})(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$ (valores em cm^{-1}).	63
Tabela 10- Dados para as voltametrias cíclica dos complexos, obtidos a partir dos voltamogramas medidos com velocidade de varredura de 25 mV.s^{-1}	69
Tabela 11 - Resultados de IC_{50} ($\mu\text{Mol.L}^{-1}$) dos compostos contra as linhagens HeLa e MCF-7.	76
Tabela 12 – Resultados da atividade antibacteriana (mm) dos complexos (metodologia 1).	80
Tabela 13 - Resultados da atividade antibacteriana (mm) dos complexos (metodologia 2).	81

RESUMO

Neste trabalho foram estudados complexos de rutênio (II) contendo ligantes N-S doadores: 2-mercaptotiazolina e 2-mercaptobenzotiazolina. Os complexos foram caracterizados através das técnicas de RMN ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, voltametria cíclica e análise elementar. Para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ foi obtido o monocristal adequado para o estudo por difração de raios X. A análise de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ revelou a presença de apenas um simpleto para todos os complexos, em função da presença de dois núcleos de fósforos em ambientes químicos equivalentes. A diferença de pKa dos ligantes é um dos fatores que explica a diferença nos deslocamentos químicos nos espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Nos espectros de RMN de ^1H foi possível observar os sinais característicos dos ligantes fosfínicos e N-S coordenados ao rutênio. Ainda, os espectros são compatíveis com a coordenação dos ligantes N-S desprotonados. Os espectros vibracionais na região do infravermelho confirmaram a coordenação dos ligantes N-S na forma aniônica. Além disso, a espectroscopia vibracional confirmou a presença de monóxido de carbono nos complexos obtidos a partir do precursor $[\text{RuCl}_2(\text{CO})(\text{dmf})(\text{PPh}_3)_2]$ e nos testes de reatividade com monóxido de carbono. Os complexos tiveram seu comportamento eletroquímico avaliado por voltametria cíclica. Todos os complexos apresentaram um processo reversível e monoelétrônico, atribuído ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$. Os valores de $E_{1/2}$ dos complexos estudados foram, no geral, dependentes dos valores de pKa dos ligantes N-S. Para os complexos contendo monóxido de carbono, o pKa dos ligantes não teve influência nos valores de $E_{1/2}$. Os complexos foram estudados na avaliação da atividade antitumoral e antibacteriana. Os complexos testados mostraram ser promissores frente as linhagens de células HeLa, MCF-7 e A458. O complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ apresentou inibição de 30% no crescimento de células A458 e mostrou ser específico para essa linhagem. Para os testes antibacterianos contra cepas de bactérias *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* os complexos apresentaram resultados satisfatórios; o complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ apresentou boa atividade de inibição no crescimento bacteriano.

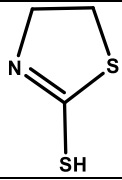
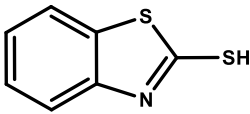
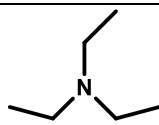
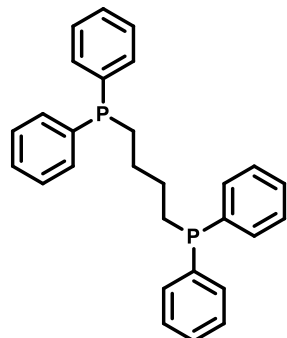
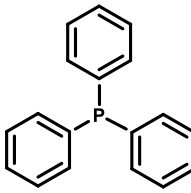
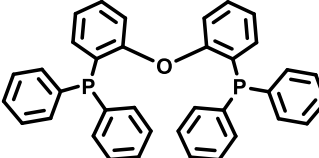
Palavras-chave: síntese, complexos de rutênio(II), ligantes N-S, ligantes fosfínicos, reatividade, atividade biológica.

ABSTRACT

In this work ruthenium (II) complexes with phosphines and N-S ligands (2-mercaptothiazoline and 2-mercaptobenzothiazole) were studied. These complexes were characterized by ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR techniques, vibrational spectroscopy, cyclic voltammetry and elemental analysis. For the $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ complex suitable single-crystals appropriated to x-ray diffraction were obtained. The $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR analysis showed the presence of one singlet for all the complexes, due to the presence of two phosphorus nuclei with equivalent chemical environments. The difference in the pKa values of the N-S ligands is one of the factors that explains the difference in the chemical shifts in the $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR spectra. In the ^1H NMR spectra were observed the characteristic signals of the aromatic hydrogen atoms of the phosphine and the signals of coordinated N-S ligands. Moreover, the spectra are compatible with the coordination of the deprotonated N-S ligands. The vibrational spectra confirmed the coordination of the N-S ligands in the anionic form. In addition, vibrational spectroscopy confirmed the presence of carbon monoxide in the complexes obtained from the precursor $[\text{RuCl}_2(\text{CO})(\text{dmf})(\text{PPh}_3)_2]$ or in the reactivity tests with carbon monoxide. The electrochemical behavior was evaluated by cyclic voltammetry. All complexes showed one reversible and mono electronic process, assigned to the redox pair $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$. The $E_{1/2}$ values were dependent on the pKa value of the N-S ligand. For carbon monoxide containing complexes, the pKa values had no influence on the $E_{1/2}$. The complexes were used in antitumor and antibacteria tests. In the cell lines HeLa, MCF-7 and A458 the complexes showed low activity. The $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ complex exhibited 30% of inhibition in the A458 cell growth and shown to be specific for this lineage. For the antibacterial tests against strains of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* the complexes showed satisfactory results; $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ complex showed good activity in inhibiting bacterial growth.

Keywords: synthesis, ruthenium(II) complexes, N-S ligands, phosphine ligands, reactivity, biological activity.

TABELA DE FIGURAS

Nome	Abreviatura	Massa molar (g.mol ⁻¹)	Estrutura
2-Mercaptotiazolina	Mctz	119,21	
2-mercaptobenzotiazolina	Mcbtz	167,25	
Trietilamina	NEt ₃	101,19	
1,4-bis(difenilfosfina) butano	Dppb	426,47	
Trifenilfosfina	PPh ₃	262,28	
(bis(2-difenilfosfino)fenil)éter	DPEphos	538,55	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ar – Argônio – Atmosfera de Argônio
A458 – linhagem de células de câncer de pulmão
BHI – *brain heart infusion*
d – duplete
DCM – Diclorometano
DMSO – Dimetilsulfóxido
Dppb – 1,4 – bis(difenilfosfina)butano
DMEM – *Dulbecco's Modified Eagle Medium*
DMF – N,N'-dimetilformamida
DPEphos – (bis(2-difenilfosfino)fenil)éter
DMSO – dimetilsulfóxido
 $E_{1/2}$ – potencial de meia-onda
Epa – potencial de pico anódico
Epc – potencial de pico catódico
HeLa – linhagem de células de câncer cervical
Ipa – corrente de pico anódico
Ipc – corrente de pico catódico
IV – Espectroscopia vibracional na região do infravermelho
Mcbtz – 2- Mercaptobenzotiazolina
Mctz – 2- Mercaptotiazolina
MCF-7 – linhagem de células de câncer de mama
MeOH – Metanol
NEt₃ – Trietilamina
PPh₃ – Trifenilfosfina
PTBA – Perclorato de tetrabutilamônio
RMN – ¹H : Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio
RMN de ³¹P{¹H} – Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo desacoplado de Hidrogênio
T. A. – Temperatura Ambiente
THF –Tetraidrofurano
 δ – Deslocamento químico em ppm
 ν – Número de Onda / cm⁻¹

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
GERAL.....	15
1.2 . APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DE COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO.....	15
1.3 COMPLEXOS DE RUTÊNIO NA MEDICINA.....	18
1.4 LIGANTES	24
1.4.1 Ligantes N-S	24
1.4.2 Ligantes Fosfínicos	28
2. OBJETIVOS.....	31
2.1. OBJETIVOS GERAIS.....	31
2.2 . OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3. MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1. REAGENTES QUÍMICOS E INSTRUMENTAÇÃO	32
3.1.1. Obtenção da atmosfera inerte – Argônio.....	32
3.1.2. Reagentes químicos	32
3.1.3. Monóxido de Carbono.....	32
3.1.4. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	33
3.1.5. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	33
3.1.6. Voltametria cíclica	33
3.1.7. Difração de raios X de monocristal.....	34
3.1.8. Análise elementar	34
3.1.9. Condutividade Molar	34
3.2. ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE IN VITRO CÉLULAS TUMORAIS	34
3.2.1. Condições de cultura e Linhagens celulares	34
3.2.2. Método do ensaio de Citotoxicidade.....	35
3.2.3. Preparação dos compostos para os ensaios citotóxicos in vitro	36
3.3. ENSAIOS ANTIBACTERIANOS.....	36
3.3.1. Condições de cultura e método do ensaio	37
3.3.2. Método do ensaio de atividade antimicrobiana.....	37
3.3.3 Preparação dos compostos para os ensaios antibacterianos	38
3.4. SÍNTESES DOS PRECURSORES.....	38
3.4.1 [RuCl ₂ (PPh ₃) ₃].....	38
3.4.2 Trans, trans, trans [RuCl ₂ (CO)(dmf)(PPh ₃) ₂].....	39
3.4.3 Trans, Mer- [RuCl ₂ (κ ³ P,P,O - DPEphos)(PPh ₃)]	39
3.4.4 [Ru ₂ Cl ₄ (dppb) ₃].....	39

3.5 SÍNTESES DOS COMPLEXOS	40
3.5.1 [Ru(mctz) ₂ (PPh ₃) ₂] e [Ru(mcbtz) ₂ (PPh ₃) ₂].....	40
3.5.2 [Ru(mctz) ₂ (dppb)] e [Ru(mcbtz) ₂ (dppb)]	40
3.5.3 [Ru(mctz) ₂ (κ ² -P,P-DPEphos)] e [Ru(mcbtz) ₂ (κ ² -P,P-DPEphos)].....	41
3.5.4 [Ru(mctz) ₂ (κ ² -P,P-DPEphos)] e [Ru(mcbtz) ₂ (κ ² -P,P-DPEphos)].....	41
3.5.5 [RuCl(CO)(mctz)(PPh ₃) ₂].....	42
3.5.6 [RuCl(CO)(mcbtz)(PPh ₃) ₂].....	42
3.6 REATIVIDADE COM CO	42
3.6.1 Complexo [Ru(mcbtz) ₂ (PPh ₃) ₂].....	43
3.6.2 Complexo [Ru(mctz) ₂ (PPh ₃) ₂].....	43
3.7 REATIVIDADE COM DIMETILSULFÓXIDO (DMSO)	43
3.7.1 [Ru(mctz) ₂ (PPh ₃) ₂].....	43
3.7.2 [Ru(mcbtz) ₂ (PPh ₃) ₂].....	44
3.7.3 [RuCl(CO)(mcbtz) ₂ (PPh ₃) ₂].....	44
3.7.4 [RuCl(CO)(mctz) ₂ (PPh ₃) ₂].....	44
3.8 FLUXOGRAMA GERAL DAS SÍNTESES.....	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	46
4.1. ANÁLISE ELEMENTAR	46
4.2. CONDUTIVIDADE MOLAR	46
4.3. COMPLEXOS DA SÉRIE [RU(N-S) ₂ (PPH ₃) ₂]: [RU(MCTZ) ₂ (PPH ₃) ₂] E [RU(MCBTZ) ₂ (PPH ₃) ₂].....	46
4.3.1. Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho	47
4.3.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ³¹ P{ ¹ H} e de ¹ H	49
4.3.3. Difração de Raios X	52
4.4. COMPLEXOS DA SÉRIE [RU(N-S) ₂ (DPPB)]: [RU(MCTZ) ₂ (DPPB)] E [RU(MCBTZ) ₂ (DPPB)].....	57
4.4.1. Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho	57
4.4.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ³¹ P{ ¹ H} e ¹ H	59
4.5. COMPLEXOS DA SÉRIE [RU(N-S) ₂ (κ ² -P,P-DPEPHOS)] : [RU(MCTZ) ₂ (κ ² -P,P-DPEPHOS)] E [RU(MCBTZ) ₂ (κ ² -P,P-DPEPHOS)]	61
4.5.1. Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho	62
4.5.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ³¹ P{ ¹ H} e ¹ H	63
4.6. COMPLEXOS DA SÉRIE [RUCL(N-S)(CO)(PPH ₃) ₂]	65
4.6.1. Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho	65
4.6.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ³¹ P{ ¹ H} e ¹ H	67
4.7. VOLTAMETRIA CÍCLICA	68

4.8. REATIVIDADES COM MONÓXIDO DE CARBONO (CO)	71
4.8.1. $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$	71
4.8.2. Complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$	73
4.9. REATIVIDADES COM DIMETILSUFÓXIDO (DMSO).....	74
4.9.1. $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mctz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mcbtz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$	74
4.9.2. $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$	74
4.10. ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE IN VITRO	75
4.11. ENSAIOS PRELIMINARES ANTIBACTERIANOS	79
5.0. CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
REFERÊNCIAS	86

1. INTRODUÇÃO

GERAL

É notório que compostos inorgânicos vêm sendo amplamente estudados em química medicinal. Tanto sais inorgânicos comuns quanto compostos de coordenação têm recebido destaque na literatura em função de várias características como, por exemplo, facilidade nas sínteses e versatilidade no meio biológico.

Um dos marcos na química inorgânica medicinal, foi a descoberta no final dos anos 60 do quimioterápico cisplatina (*cis*-[PtCl₂(NH₃)₂]) - composto de coordenação amplamente empregado ainda nos anos atuais ¹. Com isso, os compostos de coordenação tornaram-se alvos importantes nos estudos de novos fármacos, para o tratamento de diversas doenças ^{2 3}.

1.2. APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DE COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO

Naturalmente, alguns elementos metálicos foram selecionados, em função de suas características químicas, para desempenhar funções essenciais em sistemas biológicos. Estes elementos metálicos, na forma de cátions, participam de processos de transferência de elétrons, transporte de O₂ e CO₂, catalisam reações ou desempenham papel estrutural ⁴.

Uma característica que torna os metais importantes como componentes (funcionais e estruturais) dos seres vivos é a sua propensão em perder elétrons facilmente formando íons com cargas positivas, que tendem a ser solúveis em fluidos biológicos. Na forma catiônica é que os metais desempenham suas principais funções biológicas ⁵.

Assim, íons metálicos apresentam-se com deficiência em elétrons e biomoléculas como proteínas e DNA são ricos em elétrons. Sendo dessa forma, a atração entre estas oposições de cargas que conduz uma tendência geral dos íons metálicos interagirem com moléculas biológicas ⁵.

Porém, os metais chamados de não-essenciais também são amplamente empregados na medicina, tanto no diagnóstico quanto no tratamento de doença. Como por exemplo, pode-se citar os complexos de ouro que são usados no tratamento de artrite ⁶, complexos de prata no tratamento de infecções bacterianas, complexos de platina como agentes quimioterápicos ⁴, compostos de gadolínio como agentes de

contraste, e novos compostos de Rutênio e Paládio que vem sendo largamente utilizados ^{4 7 8}.

É interessante investigar o comportamento bioquímico quando se trata de um composto de coordenação, a espécie ativa pode ser: o íon metálico, os ligantes, o próprio complexo intacto ou parte dele. Muitos metalofármacos são considerados “pró-drogas, porque seus ligantes podem ser substituídos por outros presentes no meio biológico, em processos como de hidrólise, ou reações com biomoléculas no sangue ou no interior da célula, ou ainda o metal pode sofrer reações de oxido-redução antes de alcançar o seu alvo biológico. ⁹

O estudo de compostos de coordenação teve início a partir da descoberta acidental do composto cisplatina (agente quimioterápico). Em 1965, o físico Barnet Rosenberg realizou estudos sobre o efeito de um campo elétrico sobre o crescimento de bactérias *Escherichia coli*, utilizando uma cela eletroquímica contendo eletrodos de platina e solução com sais de amônio. O físico observou a inibição na divisão celular das bactérias, fato esse não influenciado pela corrente elétrica, mas sim pela formação de um complexo de platina formado no meio – o complexo *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] (*cis*-diaminodicloroplatina (II)), conhecido como cisplatina (**Figura 1**) ¹. Posteriormente, a cisplatina foi testada no tratamento de diversos tipos de câncer, sendo aprovada em 1978, pelo FDA (Food and Drug Administration) para uso clínico, desempenhando um papel importante no tratamento do câncer de testículo, ovário, garganta, bexiga e esôfago ¹⁰. Ainda, hoje é um dos fármacos antineoplásicos mais largamente utilizado, especialmente em câncer testicular, para o qual tem uma taxa de cura superior a 90% ⁵.

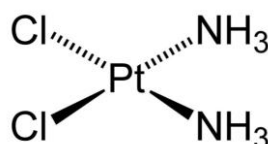


Figura 1 - Estrutura do complexo *cis*-diaminodicloroplatina II – Cisplatina.

O mecanismo de ação da cisplatina é ainda muito discutido, porém amplamente aceito no meio científico. Estudos mostram que ao entrar na célula a cisplatina sofre reações sucessivas de hidrólise para formar espécies ativadas, monoaquocisplatina [Pt(NH₃)₂Cl(OH₂)]⁺ e diaquocisplatina [Pt(NH₃)₂Cl(OH₂)₂]²⁺, que reagem mais rapidamente com os alvos celulares. Do lado externo da célula, a concentração de íons cloretos é alta (aproximadamente 100 mmol/L), o que impede a hidrólise dos ligantes e mantém a cisplatina no estado neutro. Enquanto que ao entrar na célula, a concentração de íons cloreto é baixa (aproximadamente de 4 mmol/L) e

favorece a hidrólise do complexo, formando as espécies ativadas ^{11 12}. O fragmento “Pt(NH₃)₂” pode se ligar ao DNA de diferentes formas, mas estudos evidenciaram que os átomos de N7 da base nitrogenada – guanina é o mais favorecido, formando o aduto cisplatina-DNA que é o resultado da ligação cruzada 1,2-intrafita, no qual a platina (II) situa-se ligada a duas bases adjacentes (G-G, 60% ou A-G, 20%) ^{4 12}. A formação desses adutos gera distorções na estrutura da dupla hélice do DNA, provocando uma lesão nesta molécula que impede o funcionamento normal celular e induz a apoptose ^{10 12}.

No entanto, a cisplatina possui efeitos colaterais indesejáveis, tais como, toxicidade gastrointestinal, náuseas, neurotoxicidade, e sérios danos aos rins ¹³, além da falta de atividade contra outros tipos de câncer e a resistência a droga com o seu uso prolongado ^{14 15}. De fato isso levou à síntese de novos complexos de platina – chamados análogos da cisplatina. O segundo fármaco de platina a receber aprovação pela FDA para o uso clínico foi a carboplatina (*cis*-diamino(2-ciclobutano-dicarboxilato)platina(II)) (**Figura 2**) a partir de 1985. A carboplatina (considerado fármaco de segunda geração da cisplatina) difere da cisplatina devido à maior solubilidade em água, sendo menos tóxico, porém em alguns tipos de câncer é menos eficiente. Além da carboplatina, outros fármacos chamados análogos de segunda e terceira geração da cisplatina foram aprovados para uso clínico: a oxaliplatina, a nedaplatina, a lobaplatina e a heptaplatina ¹¹⁻¹² (**Figura 2**). Após a descoberta da cisplatina, mais de 3000 complexos de platina foram sintetizados e testados na medicina ¹¹.

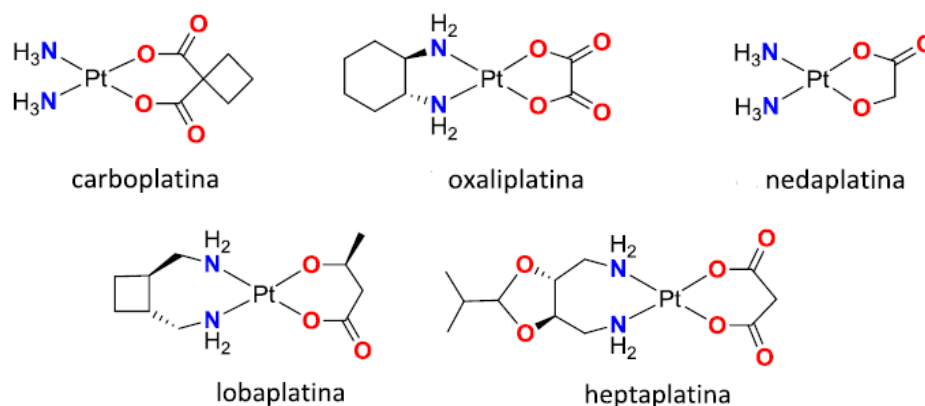


Figura 2 - Análogos da cisplatina ¹¹.

Muitos estudos visam a diferenciação e a diversidade nas estruturas de compostos com platina, ou seja, compostos que sejam capazes de provocar lesões diferentes e irreversíveis na molécula de DNA. Novos complexos de platina estão

sendo estudados, o complexo trinuclear de platina BBR3464 (**Figura 3**) que apresentou uma excelente atividade contra os cânceres de mama, pulmão, pâncreas e contra linhagens de células cancerosas de ovário resistentes à cisplatina. Para os cânceres de ovário e melanoma, o BBR3464 foi pelo menos 20 vezes mais ativo que a cisplatina.

Dos três centros de platina presentes no BBR3464, dois deles têm ligantes cloretos que são substituídos pelas bases do DNA no interior da célula. Assim, cada molécula deste complexo é capaz de gerar dois adutos monofuncionais com o DNA, podendo formar ligações cruzadas flexíveis, intra e interfitas de longo alcance, sendo esta última, a principal delas. Os modos de ligação do DNA com complexos polinucleares são distintos em relação à cisplatina. Esse complexo se mostra muito promissor dentro vários compostos sintetizados até o momento com Pt ¹⁶.

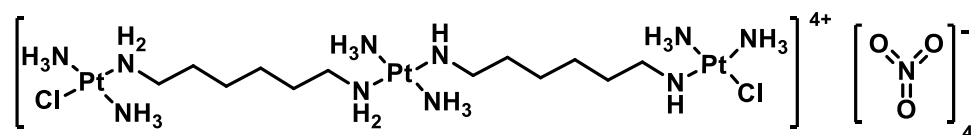


Figura 3 - Estrutura do complexo BBR3464 ¹⁶.

1.3 COMPLEXOS DE RUTÊNIO NA MEDICINA

A busca por novos complexos, utilizando outros metais de transição, tornou-se também de grande importância e de interesse para químicos inorgânicos sintéticos ¹⁷, dentre eles, os complexos de rutênio, que possuem grande potencial no estudo e desenvolvimento de novos fármacos se comparado aos de platina ¹⁴. Os complexos de rutênio possui algumas vantagens: são menos tóxicos; apresenta uma química bem comportada (complexos estáveis), forma compostos com os mais variados ligantes, e a partir de rotas sintéticas confiáveis; nos estados de oxidação II e III assume geometria octaédrica diferenciando-se dos complexos com platina II (quadrado planar), o que também acredita-se ser esse o motivo pelo o qual os complexos de rutênio apresentam um mecanismo de ação diferente nas células; a acessibilidade dos estados de oxidação +2, +3, e +4 em condições fisiológicas ^{18 19 14 15}. A baixa toxicidade pode estar relacionada ao fato do rutênio mimetizar o ferro em ligações com moléculas de importância biológica, tais como transferrina e albumina, sendo fundamentais para aplicações farmacêuticas ^{18 14}.

Os estudos de atividade antitumorais com complexos de rutênio tiveram início com Michael Clarke, no começo dos anos 80. Clarke estudou de complexos de rutênio

com aminas e na época esses compostos foram considerados inviáveis para o uso clínico, devido à baixa solubilidade em água, porém o composto neutro *fac*-[RuCl₃(NH₃)₃] apresentava boa atividade contra leucemia P388, superior a cisplatina.²⁰

Dentre alguns complexos de rutênio descritos na literatura, dois deles merecem atenção por serem excelentes anticancerígenos: NAMI-A e KP1019 e estão atualmente em ensaios clínicos de fase II. O NAMI-A, [IMH][*trans*-RuCl₄(Im)(DMSO)] (**Figura 4**) (Im= imidazol) é um derivado do NAMI (acrônimo para *New Anti-tumor Metastasis Inhibitor*) (Na)[*trans*-RuCl₄(Im)(DMSO)] pela substituição do Na⁺ por ImH⁺. O NAMI-A não exibe citotoxicidade in vitro em linhagens de células tumorais, mas apresenta capacidade de inibir o crescimento e formação de metástases, efeito não encontrado na cisplatina, além disso, é também um composto ativo contra carcinoma de Lewis (câncer de pulmão) e melanoma²¹. Já o KP1019 (**Figura 4**), é um agente citotóxico e apresenta atividade anticancerígena para alguns tipos de câncer de pulmão e rins. Os mesmos foram os primeiros complexos de rutênio a entrar em testes clínicos. O KP1019 [IndH][*trans*-RuCl₄(Ind)₂] (Ind= Indazol)^{8, 15, 22} foi inspirado a partir de outro complexo conhecido o [ImH][*trans*-RuCl₂(Im)₂] que apresenta propriedades antitumorais em modelos animais^{23 3}.

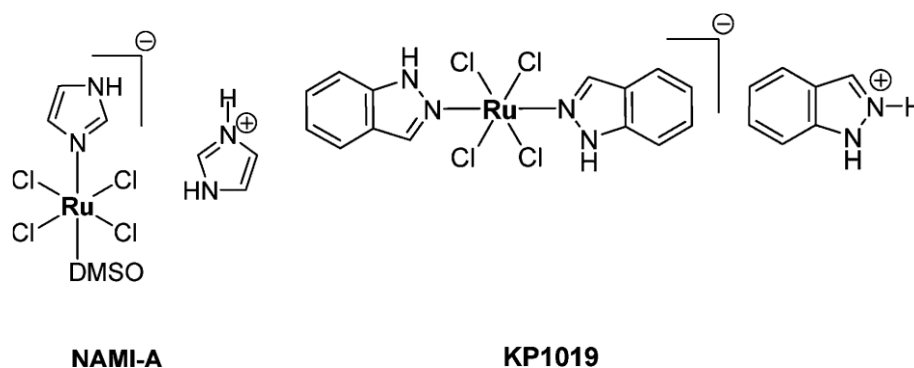


Figura 4- Estrutura dos compostos NAMI-A e KP1019.

O mecanismo de ação e o alvo biológico desses compostos citados anteriormente ainda são desconhecidos, mas sugere-se que inicialmente o complexo é transportado para dentro da célula através da transferrina e ao chegar ao interior da célula o mesmo é reduzido por moléculas biologicamente redutoras, como glutatona ou ascorbato (ou proteínas), que estão em maior concentração no meio. Posteriormente ocorre a dissociação do grupo abandonador cloreto e então a possível interação com o DNA, ou ainda a interação com outra biomolécula gerando a apoptose (**Figura 5**). Para o composto KP1019 é proposto que a indução a apoptose pode ocorrer por um caminho mitocondrial. Cabe ressaltar que a forma de ligação entre as biomoléculas e os complexos de rutênio ainda não foi esclarecida. Além disso, é

possível que os complexos de Ru (III) mantenham seus estados de oxidação até atingirem o alvo – o tumor, onde se encontra um baixo nível de oxigênio e possibilitando a redução para Ru (II) ³.

Foi realizado o estudo cinético de redução do NAMI-A com o ácido ascórbico e com íons ascorbato em diferentes condições e mostrou-se que o complexo é rapidamente reduzido, posteriormente ocorrem reações de dissociação sucessivas dos cloretos. É importante ressaltar que os ligantes axiais dmso e imidazol permanecem coordenados ao rutênio ²⁴.

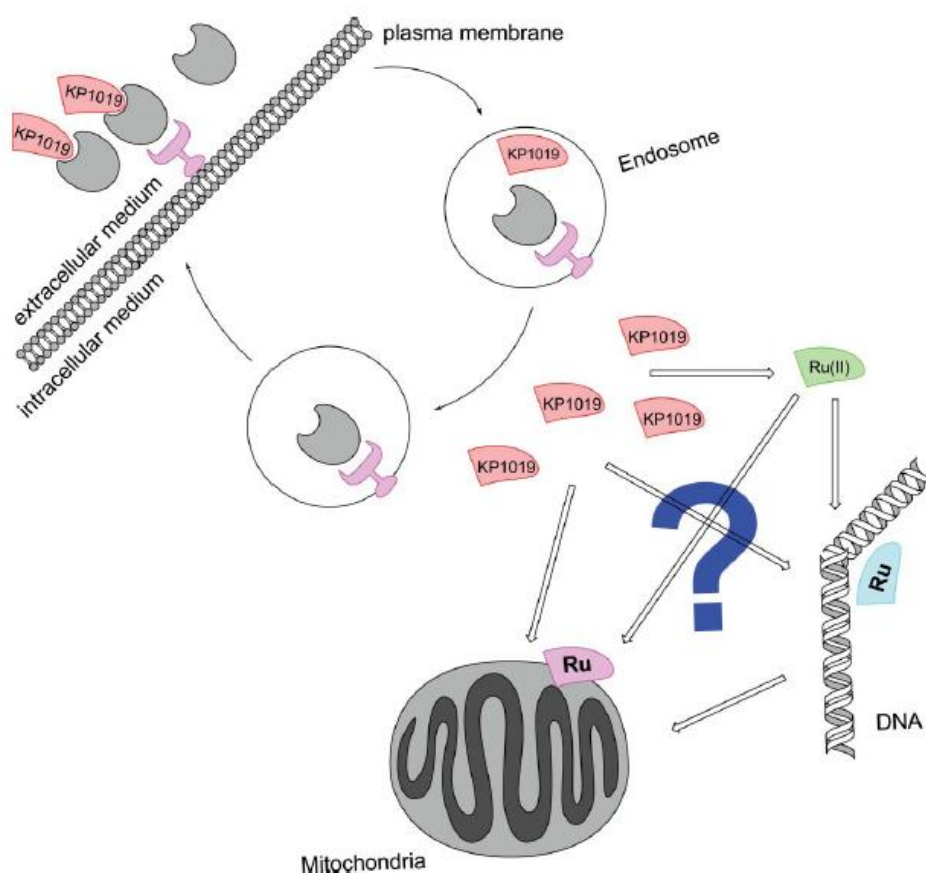


Figura 5 - Esquema da ação do complexo KP1019 ³.

Além desses complexos de Ru (III) relatados, complexos organometálicos de Ru (II) também possuem propriedades citotóxicas e antitumorais em estudos pré-clínicos, como é o caso dos arenos-complexos, o RAPTA-T ($[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{pta})]$) e RAPTA-C ($[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-tolueno})(\text{pta})]$) (com ligante pta = 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantano) representados na **Figura 6**. Estes compostos apresentam um bom efeito em metástase no pulmão ^{25 22e}. Este ligante é de natureza anfifílica, uma propriedade que é considerada potencialmente útil em termos de administração como uma droga por via oral. Porém tem uma hidrofobicidade suficiente para atravessar

membrana celular e, portanto, entrar nas células cancerosas. Acredita-se que embora possa se ligar ao DNA, não seja essa a forma de ligação ²⁶.

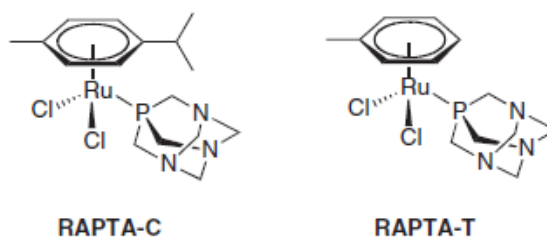


Figura 6 - Estrutura geral dos complexos RAPTA ².

Segundo Hartinger e Dyson é importante ressaltar que os compostos NAMI-A e os RAPTAS são inativos e ativos *in vitro*, respectivamente, são os únicos exemplos de drogas metálicas que mostram efeitos seletivos sobre a metástase, mas *in vivo* não apresentam quaisquer sinais de toxicidade para células saudáveis ²⁶.

Recentemente estudos com compostos de Ru (II) com a fórmula areno [Ru^{II}(η^6 -areno)(en)X]⁺ (X= Cl ou I, areno= *p*-cimeno ou bifenil, en = etilenodiamina ou *N*-etiletilenodiamina (**Figura 7**)) demonstraram inibir a proliferação de células de câncer de ovário com valores de IC₅₀ comparáveis aos da carboplatina. Este composto se liga fortemente ao DNA, formando adutos monofuncionais com seletividade para os nitrogênios da guanina. Esses estudos estimularam a síntese de mais treze análogos de Ru (II), seis dos quais são bastante ativos contra células de câncer de ovário ⁵.

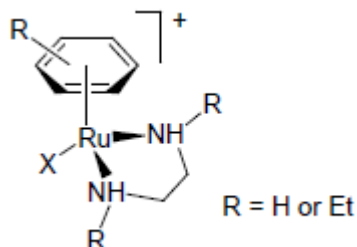


Figura 7 – Estrutura do complexo [Ru^{II}(η^6 -areno)(en)X]⁺ ⁵.

Além dos compostos de rutênio apresentar um extenso destaque como agentes antitumorais, outras aplicações biológicas importantes, como por exemplo, agentes antimaláricos ²⁷, antitripanosoma, antibacterianos vêm sendo estudadas e serão tratadas a partir daqui de forma sucinta ^{15 22a}.

A malária é uma doença infecciosa causada pelo parasita *Plasmodium*, transmitido pela picada do mosquito *Anopheles*, ou ainda por transfusão de sangue. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a malária mata mais de 3 milhões de pessoas a cada ano ²⁶. Existem mais de 150 espécies causadoras da malária,

dentre estas apenas quatro parasitam o homem: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax* e *Plasmodium ovale*. O *P. falciparum* é o causador de maior mortalidade e apresenta resistência aos medicamentos, essa resistência é um dos problemas encontrados atualmente ²⁸.

Tem sido demonstrado que os complexos de rutênio, quando comparados a drogas orgânicas, podem superar a resistência desenvolvida pelos microorganismos frente aos compostos orgânicos sozinhos. Um exemplo disso é a comparação entre um complexo de rutênio (II) com a cloroquina, o qual é um fármaco usado no tratamento da malária, mas que atualmente o *Plasmodium* tornou-se resistente a sua ação. O complexo de rutênio é de duas a cinco vezes mais ativo do que a cloroquina sozinha ²⁹.

Uma tentativa de diminuir a resistência da cloroquina foi utilizar a mesma coordenada ao rutênio, o complexo de rutênio do tipo $[RuCl_2(CQ)]_2$ (CQ= cloroquina) (**Figura 8**), mostrou-se eficiente para contornar o mecanismo de resistência do *Plasmodium falciparum*, exibindo atividade satisfatória *in vitro* aumentada 4,5 vezes contra cepas de CQ-resistentes (FCB1 e FCB2), esse desempenho pode ser explicado através do sinergismo (metal-droga). Ainda outro estudo comparando a CQ, a cloroquinadifosfato (outro medicamento usado no tratamento da malária) e complexos de rutênio, observou-se que os compostos orgânicos livres apresentaram redução da parasitemia em 55 %, no entanto, os compostos de rutênio apresentaram redução de 94% *in vivo* para testes em *Plasmodium berghei* (tipo de plasmódio que tem como hospedeiro o rato do mato e é muito utilizado em laboratórios para estudos experimentais). Além, disso nenhum efeito de toxicidade aguda foi observado nos ratos tratados por drogas de rutênio ^{30 31 32}.

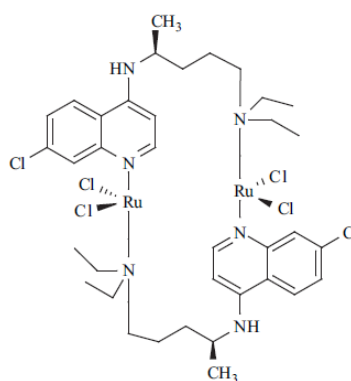


Figura 8- Estrutura do complexo $[RuCl_2(CQ)]_2$ ³².

Ainda, tratando de doenças causadas por parasitas, muitos trabalhos relatam o estudo de complexos de rutênio no tratamento da doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e transmitida pelo inseto chamado popularmente de barbeiro. Essa doença afeta 20 milhões de pessoas na América Latina e estima-se

que seja responsável pela morte de 50 mil pessoas por ano no mundo ²⁷. Compostos de rutênio envolvendo distintos ligantes estão sendo importantes no estudo contra essa enfermidade, conforme reportado na literatura ^{27 33 34}.

Pode-se citar complexos *cis*-[Ru(NO)(bipy)₂(imN)(PF₆)₃], *cis*-[Ru(NO)(bipy)₂(1-imN)(PF₆)₃] e *cis*-[Ru(NO)(bipy)₂(SO₃)PF₆] apresentaram valores de IC₅₀ de 89, 97 e 153 μM, respectivamente, contra *T. cruzi*, resultados inibitórios promissores.

Sánchez-Delgado e colaboradores reportaram resultados na proliferação das formas epimastigotas do *T. cruzi* utilizando complexo de rutênio com clotrimazol [RuCl₂(CTZ)₂] (onde CTZ= clotrimazol) (**Figura 9**), mostrando a inibição da proliferação em 90%, enquanto que o composto orgânico livre (CTZ) apresentou baixo efeito. Assim, considera-se que este complexo rutênio é realmente um tripanocida (parasitas são mortos após o tratamento). Em outro estudo realizado com amastigotas intracelulares crescidas em células de mamíferos (conhecidos como células Vero), mostrou que o complexo de rutênio teve um aumento de cerca de 10 vezes na atividade comparado com o ligante livre. Além disso, foi relatado que o complexo [RuCl₂(CTZ)₂] não teve nenhum efeito prejudicial sobre as células de mamífero, enquanto que o ligante livre afetou as células Vero nas mesmas condições. Esses estudos indicam que o complexo de rutênio além de ser ativo é também menos tóxico do que o livre CTZ.

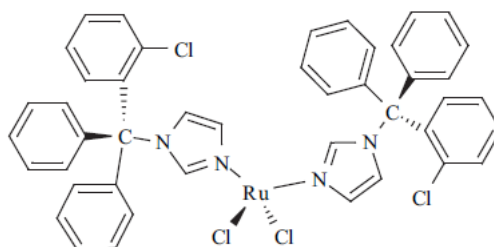


Figura 9 – Estrutura do complexo [RuCl₂(CTZ)₂].

Também é descrito em muitos trabalhos a necessidade de se encontrar novos compostos antibacterianos, devido à resistência adquiridas por esses microorganismos, bactérias como *Escherichia Coli* ^{35 36}, *Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus aureus* ³⁷, *Mycobacterium tuberculosis* ³⁸.

Como por exemplo, a bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), agente da tuberculose, que é responsável pela morte de cerca de 2-3 milhões de pessoas por ano. Desde 1960, não há novas drogas contra a micobactérias, apenas nos últimos anos têm surgido compostos promissores. Há muita evidência de que os compostos de coordenação são agentes antituberculose eficazes ^{39 40}.

Complexos de rutênio contendo o ácido 2-piridinocarboxilato, com fórmulas *cis*-[Ru(pic)(dppm)₂PF₆] (1), *cis*-[Ru(pic)(dppe)₂PF₆] (2) e [Ru(pic)₂(PPh₃)₂] (3) foram estudados como agentes antimicrobacteriano *in vitro* e foi determinado a concentração mínima inibitória (MIC) para o crescimento celular da MTB. Os resultados encontrados para os compostos 1 e 2, 0,78 e 0,26 mg/mL, respectivamente, foram bem satisfatórios quando comparado com medicamentos comumente utilizados no tratamento de tuberculose.

Em um estudo de inibição de bactérias *B. subtilis* (gram positivas) e *E. coli* (gram-negativas), realizado por N.Thilagavathi e C. Jayabalakrishnan (2010) utilizando complexos de rutênio (III) com ligantes mistos contendo trifenilfosfina / trifenilarsina e 3,4-di-hidropirimidina-2- (1-tiona), representados na **Figura 10**, verificou-se que os complexos de rutênio possuem maior atividade em inibir o crescimento bacteriano do que os seus ligantes livres e foi proposto que o mecanismo envolvido está relacionado com a alteração do processo de respiração celular e, portanto, bloqueando a síntese de proteínas que restringe ainda mais o crescimento do organismo. O teste foi realizado em duas concentrações de 0,5 e 1,0% dos compostos a inibição aumentou com a concentração, mas em concentrações superiores não há mudanças. Além disso, os complexos que possuíam o ligante contendo enxofre apresentaram maior inibição do que os seus análogos (ligantes com oxigênio) correspondentes ³⁶.

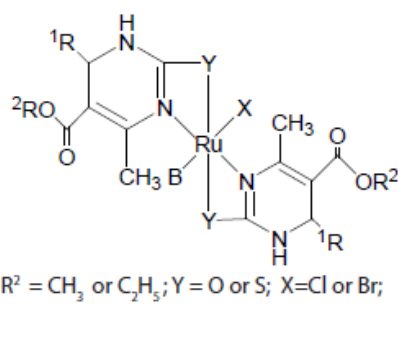


Figura 10 - Estrutura do complexo de Ru (III) e seus substituintes ³⁶.

Dessa maneira, compostos de rutênio são uma alternativa promissora para fármacos em potencial para o tratamento de muitas enfermidades como foi mencionado até aqui.

1.4 LIGANTES

1.4.1 Ligantes N-S

Ligantes N-S são interessantes na química de coordenação, pois apresentam dois átomos doadores de pares eletrônicos: o enxofre, que é um átomo doador macio e o nitrogênio que é um doador intermediário ¹³. Essa característica confere a esse tipo de ligante a capacidade de se coordenar a diferentes centros metálicos ⁴¹. Esses ligantes podem ser encontrados na forma de heterocíclicos ou não cíclicos conforme representados na **Figura 11**.

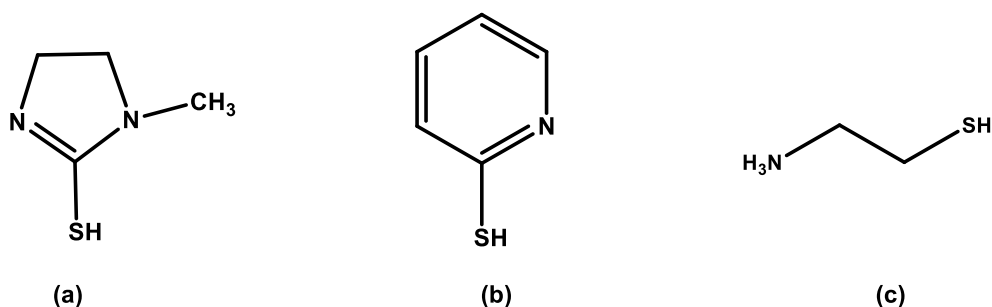


Figura 11 - Ligantes N-S: heterocíclicos (a) e (b); não cíclico (c).

Dentro da classe dos ligantes N-S, encontram-se as tiazolinas que são compostos orgânicos heterocíclicos de 5 membros com átomos de enxofre e nitrogênio nas posições 1 e 3 do anel, podendo apresentar ou não uma ligação dupla na posição 4 (**Figura 12**). As tiazolinas são análogas das oxazolinas (onde o enxofre do anel é substituído por um oxigênio) ⁴².



Figura 12 – Representação do grupamento tiazolínico: (a) com e (b) sem insaturação na posição 4.

Anéis tiazolínicos são encontrados em um grande número de produtos naturais biologicamente ativos ⁴³. Até o ano 2000, mais de 30 estruturas de tiazolinas foram identificadas a partir de fontes naturais, como por exemplo, em frutas, como a lichia. As tiazolinas apresentam um amplo aspecto em atividade biológica, tais como agentes anticancerígenos, antibacterianos, antiinflamatórios, anti-HIV, antidiabéticos, anti-hipertensivos, anti-Alzheimer, entre outros ^{44 45 46}.

Devido à disposição dos átomos de nitrogênio e enxofre no anel, os ligantes tiazolínicos não são capazes de se coordenar ao metal na forma bidentada.

Entretanto, grupamentos tiazolínicos substituídos na posição 2 possibilitam a coordenação ao metal através de dois átomos doadores, como é o caso do ligante 2-mercaptotiazolina representado na **Figura 11**. Uma das principais características desses ligantes é a tautomeria, ou seja, pode se encontrar tanto na forma tiona, quanto na forma tiol, ou ainda desprotonado na forma tiolato ou tionato, conforme apresentado na **Figura 13** ^{41a, 47}

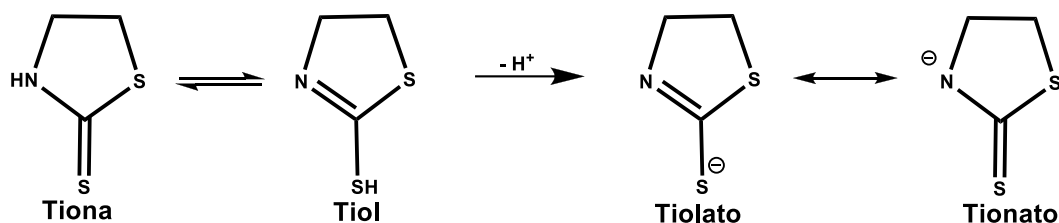


Figura 13 - Formas tautoméricas para o ligante 2-mercaptotiazolina.

Segundo Eric Raper, a formação dos ânions a partir da desprotonação tanto no exocíclico-S quanto no heterocíclico-N gera uma disponibilidade de coordenação química mais rica do que na forma neutra (**Figura 14**) ⁴⁸.

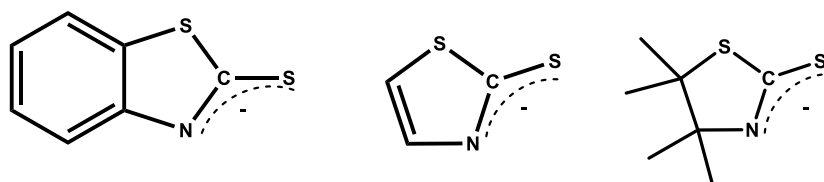


Figura 14- Representação da formação do ânion gerando uma maior disponibilidade de coordenação. ⁴⁸

A presença dos dois sítios doadores na forma protonada ou desprotonada pode proporcionar vários modos de coordenação com um ou mais íons metálicos. ^{47e} Na **Figura 15**, estão representados os possíveis modos de coordenação de ligantes N-S, o modo (I) apresenta a forma monodentada, através da coordenação via S ; (II) a forma monodentada via N; (III) em ponte através do S com dois centros metálicos; (IV) em ponte através do S e N; e (V) coordenando-se na forma bidentada via S e N. ^{47a}

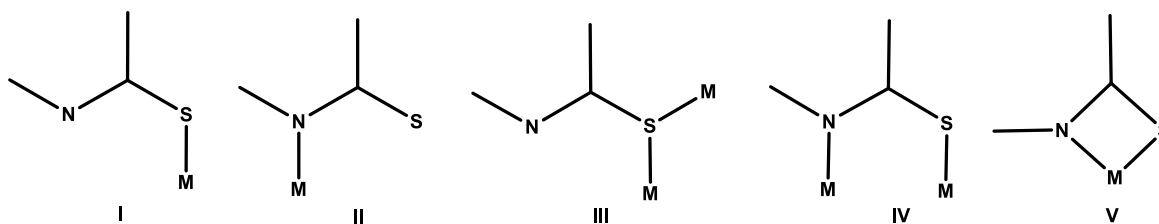


Figura 15 - Modos de coordenação de ligantes N-S. ^{47a}

Os primeiros estudos com este tipo de ligante foram feitos por Dehand e Jordanov (1976), mostrando o efeito do pH na forma de coordenação dos ligantes N-S. Assim, propuseram que em meio ácido os ligantes coordenam-se apenas por meio do N-heteroátomo. No entanto, em meio básico coordenam-se pelo átomo de enxofre, no caso do ligante mctz, enquanto que com os ligante mcbtz e mctzim coordenam-se na forma bidentada com metais Pt (II), Rh (I) e Rh (III). Os autores reportaram a forma tautomérica dominante para esses ligantes livres. No caso dos ligantes mcbtz e mctzim encontra-se na forma tiona, enquanto que o mctz, que é mais básico, encontra-se como uma mistura das duas formas tiol/tiona. ⁴⁹

Dentro deste tema, um dos trabalhos mais relevantes na literatura, que contribuiu para a expansão do estudo de compostos heterocíclicos do tipo N-S (tiona, tionato e tiolato) na química de coordenação, foi publicado pelo autor Eric Raper, sendo a última revisão publicada em 1996 com uma extensa descrição desses ligantes com complexos metálicos do grupo 11. ^{47a}

Muitos estudos envolvendo complexos metálicos contendo ligantes N-S vêm sendo reportados na literatura, devido às suas aplicações industriais e biomédicas (antivirais, antitumorais e antibacterianos). ^{47d 50 36 47d 41a 51}

Um exemplo da aplicação biológica dessa classe de complexos foi relatado por Nascimento e colaboradores. Nesse trabalho o autor relata que os complexos [Ru(SpymMe₂)(dppb)(N-N)]PF₆ (**Figura 16**) e [Ru(SpymMe₂)(dppb)(Me-bipy)]PF₆ (onde SpymMe₂=4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina), mostraram boa atividade em testes preliminares *in vitro* contra *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv ATCC 27264), apresentando valores similares a isoniazida, medicamento utilizado no tratamento da tuberculose. Esses mesmos complexos foram testados em linhagens de câncer de mama (MDA-MB-231) e apresentaram um IC₅₀ (μM) de 0,46 ±0,02 e 0,43 ±0,08, respectivamente. Os valores obtidos demonstram uma atividade maior do que o composto cisplatina (IC₅₀ μM = 63 ±5), o que indica a grande eficiência dos complexos como potenciais agentes antitumorais. ³⁸

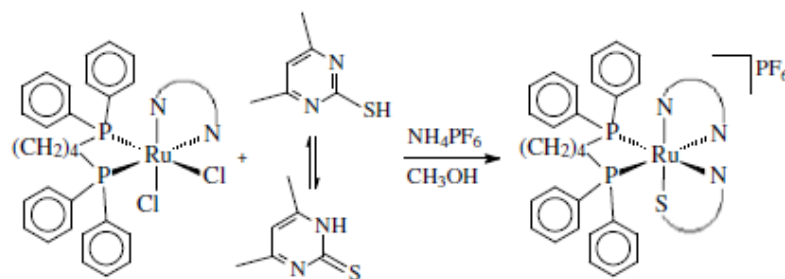


Figura 16 - Formação do complexo $[\text{Ru}(\text{SpymMe}_2)(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$.³⁸

1.4.2 Ligantes Fosfínicos

As fosfinas são muito utilizadas na química de coordenação, pois apresentam propriedades interessantes. São ligantes π -retiradores, como CO e NO^+ . As fosfinas têm um par de elétrons par isolado no átomo de P e possui basicidade comparável às piridinas sendo um bom doador σ .¹³ Apresentam orbitais vazios do tipo $3p\sigma^*d\pi$ vazios, capazes de receber elétrons, ou seja, esses orbitais ocupados d comportam-se como receptores π adequados à retroligação (**Figura 17**). Assim, neste tipo de ligação química a densidade eletrônica é sinergisticamente compartilhada entre o ligante e o metal, formando ligações mais estáveis.^{13 52}

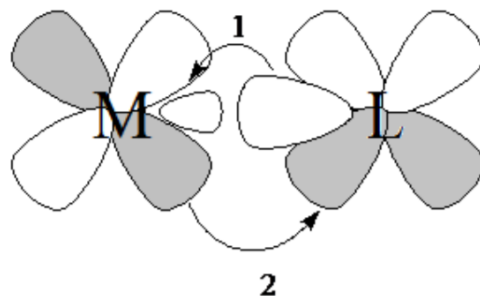


Figura 17- Ilustração das interações metal-ligante (1 – ligação σ) e (2- retrodoação π)

⁵².

As fosfinas são conhecidas por estabilizar metais de transição em baixos estados de oxidação, mas a sua versatilidade é também documentada por sua capacidade de se coordenar com metais de transição em estados de oxidação mais elevados⁵³. Além disso, pode ter influência na reatividade de complexos metálicos, através de efeitos estéricos e eletrônicos. As características eletrônicas das fosfinas podem ser moduladas através da variação dos substituintes (efeito mesomérico ou indutivo).⁵²

Os fatores estéricos estão relacionados com o tamanho dos substituintes. Aumentando-se o tamanho do substituinte R em compostos do tipo PR_3 , é possível

aumentar os ângulos R-P-R (chamado de ângulo de cone de Tolman, representado na **Figura 18**), e através dele pode-se aumentar a distância M-P e M-L (L = ligante em posição *cis* ou *trans* em relação à fosfina); reduzir o caráter doador dos pares de elétrons isolados do fósforo (pela variação da contribuição do orbital s), controlar a formação de isômeros e o número de coordenação.^{52 54}

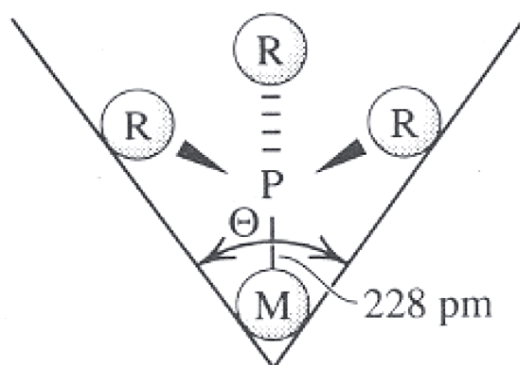


Figura 18 - Ângulo de cone de Tolman para PR_3 ⁵².

O aumento dos ângulos entre os substituintes pode diminuir o caráter s da ligação σ , e o aumento da eletronegatividade dos substituintes pode gerar variações nas distâncias e nos ângulos das ligações, podendo-se presumir o efeito que a substituição das fosfinas causa nas energias de ligação do CO. Como exemplo, as energias da ligação CO aumentam conforme radicais mais eletronegativos são adicionados nas fosfinas no complexo $\text{Ni(CO)}_3\text{L}$ (L = fosfina) (PMe_3 (1982 cm^{-1}) < PPh_3 (1990 cm^{-1}) < P(OEt)_3 (1996 cm^{-1}) < PPhCl_2 (2016 cm^{-1}). Os valores sugerem que a eletronegatividade induzida no átomo de fósforo tende a retirar uma maior densidade eletrônica do metal, enfraquecendo (diminuindo) a retrodolição metal-carbonila, e conseqüentemente diminuindo o comprimento da ligação C-O⁵⁵ (**Figura 19**).

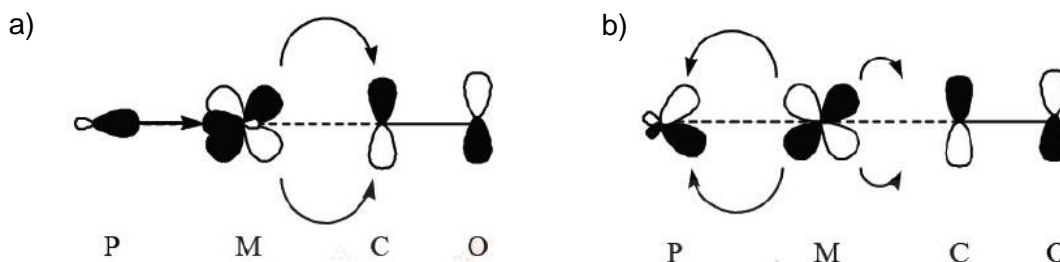


Figura 19 - a) fósforo rico em elétrons (baixo valor do estiramento C-O).

b) fósforo pobre em elétrons (alto valor do estiramento C-O).

Quando se trabalha com ligantes fosfínicos comparado com outros tipos de ligantes, uma ferramenta vantajosa na determinação das estruturas de compostos diamagnéticos em solução é a técnica de ressonância magnética nuclear. O isótopo ^{31}P , spin=1/2, de abundância relativa de 100% e a ampla faixa de deslocamentos

químicos, destaca o fósforo nesta técnica que tem se difundindo e tornado indispensável para a determinação estrutural ⁵⁵.

Desde a descoberta da atividade antiartrítica exibida pelo complexo Auranofina [(2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosato) (trietilfosfina) ouro (I)] (**Figura 20**) aprovado para uso clínico em 1985, os estudos com ligantes fosfínicos na medicina têm crescido nas últimas décadas e mostram-se bastante promissores ⁵⁶.

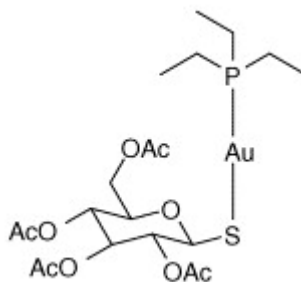


Figura 20 - Estrutura da Auranofina ⁶.

Complexos contendo ligantes fosfínicos de vários metais de transição (Au, Ag, Cu, Ru, Rh, Pt, Pd) foram avaliados como potenciais agentes anti-tumorais em várias linhagens tumorais humanas, como por exemplo, complexos de ouro que exibiram atividade promissora, atribuída à presença dos ligantes fosfínicos, uma vez que complexos similares sem esses ligantes mostraram uma atividade muito baixa ³⁸.

Dessa forma, o desenvolvimento de complexos de rutênio com ligantes N-S doadores e ligantes fosfínicos é uma alternativa na busca de novos compostos com potencial aplicação na medicina.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GERAIS

1. Sintetizar e caracterizar novos complexos de rutênio (II) contendo ligantes N-S como átomos doadores.

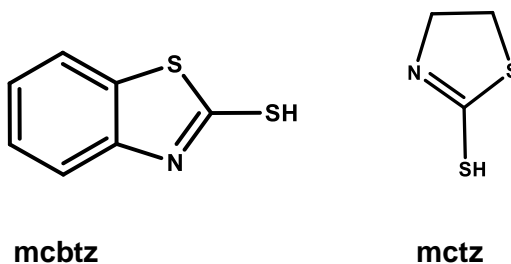


Figura 21- Ligantes N-S doadores utilizados.

2. Estudar atividade dos complexos sintetizados em aplicações biológicas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar complexos de rutênio (II) contendo ligantes N-S como átomos doadores utilizando os precursores: $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$; *trans, trans, trans* $[\text{RuCl}_2(\text{CO})(\text{dmf})(\text{PPh}_3)_2]$; *trans, mer*- $[\text{RuCl}_2(\kappa^3\text{-P,P,O-DPephos})(\text{PPh}_3)]$ e $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{dppb})_3]$.
2. Caracterizar os complexos obtidos através de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H ^{31}P $\{^1\text{H}\}$; espectroscopia vibracional na região do infravermelho; voltametria cíclica; análise elementar e difração de raios X.
3. Testar a reatividade dos complexos com monóxido de carbono (CO) e dimetilsufóxido (DMSO).
4. Testar a atividade dos complexos sintetizados como compostos antitumorais em linhagens de célula HeLa, A458 e MCF-7.
5. Testar a atividade antibacteriana dos complexos sintetizados em cepas de bactérias *Escherichia Coli* e *Bacillus Subtilis*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. REAGENTES QUÍMICOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.1. Obtenção da atmosfera inerte – Argônio

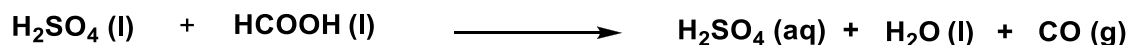
Todas as reações foram realizadas sob atmosfera de argônio (White Martins), que foi purificado através de óxido de manganês II, coluna de sílica e cloreto de cálcio.

3.1.2. Reagentes químicos

Os solventes de grau analítico (MeOH, DCM, hexano, éter etílico, isopropanol, tetraidrofurano e acetona) foram previamente tratados como descrito na literatura ⁵⁷. O $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ foi fornecido pela Johnson Matthey Ltda, ligante 2-mercaptobenzotiazolina (Eastman Kodak) e 2-mercaptotiazolina, trifenilfosfina e ferroceno (Aldrich), DPephos (Aldrich), dppb (Aldrich), PTBA (Fluka Purum), trietilamina (Aldrich), clorofórmio deuterado (Cambridge Isotope Laboratories, In.), dimetilsufóxido deuterado ($\text{dms}\text{-D}^6$ - Cambridge Isotope Laboratories, In.) benzeno (Reagen), dimetilformamida (Carlo Erba), dimetilsulfóxido (Synth), brometo de potássio (Synth), foram utilizados sem tratamento prévio.

3.1.3. Monóxido de Carbono

O monóxido de carbono foi gerado pela desidratação do ácido fórmico (HCOOH) promovida pelo ácido sulfúrico concentrado, segundo a equação 1. O monóxido de carbono gerado foi transferido para o frasco reacional, conforme **Figura 23**.



Equação 1 - Equação química de desidratação do ácido fórmico promovida pelo ácido sulfúrico.

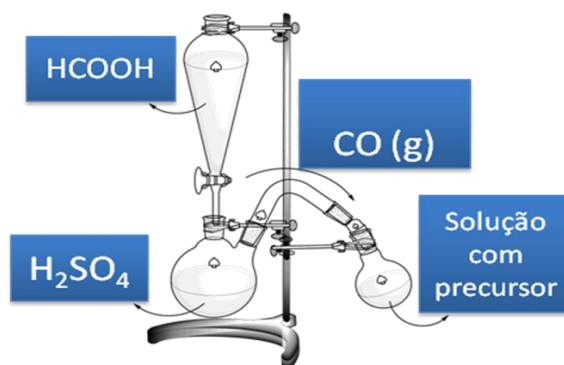


Figura 22-Ilustração da formação do monóxido de carbono a partir da desidratação do ácido fórmico.

3.1.4. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

As análises de espectroscopia vibracional da região do infravermelho foram realizadas no espectrofotômetro Excalibur BIO-RAD 3500 GX e BOMEM na região entre 400 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} .

As amostras foram feitas em pastilhas de brometo de potássio (KBr) ou solução de DCM. O equipamento utilizado está disponível no Departamento de Química da UFPR.

3.1.5. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN foram obtidos no espectrômetro BRUKER Model DRX 200 MHz, 4,7 Tesla. Os deslocamentos químicos dos espectros de ^1H foram determinados em relação ao tetrametilsilano (TMS). As soluções foram preparadas utilizando solventes deuterados para os espectros de ^1H (CDCl_3 , $\text{DMSO-}d_6$) e CH_2Cl_2 para os espectros de ^{31}P . com capilar contendo D_2O , os deslocamentos químicos referentes ao H_3PO_4 85%.

3.1.6. Voltametria cíclica

As análises de voltametria cíclica foram realizadas no pontecioestado Palm-Sens®, em célula eletroquímica convencional de três eletrodos: trabalho e contra-eletródo (platina), como eletródo referência prata/cloreto de prata (Ag/AgCl). Utilizou-se como eletrólito para a manutenção da força iônica do meio uma solução de perclorato de tetrabutilamônio (PTBA/DCM - $0,1\text{ mol.L}^{-1}$), com valores das velocidade de varredura 25, 50, 75, 100 e 125 mV.s^{-1} . Nestas condições o ferroceno possui $E_{1/2}$

=0,54 V. As análises foram realizadas em colaboração com departamento de Química da UEPG, pela aluna de doutorado Bianca Sandrino, através da colaboração da Professora Karen Wohnrath.

3.1.7. Difração de raios X de monocristal

Para as medidas de difração de raios X, utilizou-se um difratômetro Bruker APEX II CCD, radiação da linha $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0,7107 \text{ \AA}$). A análise foi realizada no Laboratório de Materiais Inorgânicos da Universidade Federal de Santa Maria, pelo Prof. Dr. Davi Fernando Back.

O monocristal foi obtido por difusão em bicamada DCM/n-hexano.

3.1.8. Análise elementar

As análises elementares (%C, H, N e S) foram realizadas em um analisador CHNS Carlo Erba EA 1108, da Facultad de Química, na Universidad de La República Uruguay.

3.1.9. Condutividade Molar

As análises de condutividade molar foram realizadas no condutivímetro Digimed DM-31.

3.2. ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO* CÉLULAS TUMORAIS

Os compostos foram avaliados pela capacidade de inibir o crescimento *in vitro* de células tumorais em linhagens de célula HeLa (Câncer cervical), MCF-7 (Câncer de mama) e A458 (Câncer de Pulmão). Os testes foram realizados no Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de La República Uruguay, em colaboração da Professora Dra. Maria Gabriela Krammer através do Projeto CAPES/UDELAR – 2012.

3.2.1. Condições de cultura e Linhagens celulares

Todas as manipulações envolvendo as células e a preparação dos compostos para os testes biológicos foram realizadas em capela de câmara de fluxo laminar.

As células tumorais das linhagens HeLa, MCF-7 e A458 estavam disponíveis no Instituto de Higiene sendo mantidas em *vials* congelados em nitrogênio líquido. As células foram descongeladas a 37° C, por aproximadamente 3 minutos e subculturadas serialmente para o uso nos experimentos.

As células foram cultivadas como cultura de monocamada aderente em meio de DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium - mistura de sais enriquecida com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular), suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10% e 1 mililitro de antibióticos, e foram mantidas a 37° C em uma atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂.

Para o crescimento das células o meio de cultura foi trocado a cada dois dias e examinado por microscópio. Para a realização dos ensaios citotóxicos, primeiramente, a cultura foi tripsinizada (devido à aderência das células na garrafa), em seguida uma quantidade foi utilizada para os experimentos e a outra parte foi armazenada em outra garrafa para ser usada como células estoque.

Posteriormente a tripsinização foi realizada a contagem das células ajustando o volume para que cada 200µL contivessem a quantidade de células suficientes para o desenvolvimento do experimento. As células foram adicionadas a uma placa de microcultura (placa de Elisa) de 96 poços estéreis (capacidade de 200 µL), a qual foi mantida em estufa para uma melhor adesão celular. Após 24 horas de incubação, o meio de cultura foi removido, e acrescentou-se o DMEM sem soro com os compostos, em duplicata e em diferentes concentrações. As células foram incubadas por 48 horas, a 37° C, sob atmosfera de 5% de CO₂.

3.2.2. Método do ensaio de Citotoxicidade

Para avaliar a viabilidade celular durante o tratamento *in vitro* das linhagens celulares MCF7, A458 e HeLa foi utilizado o ensaio Cell Kit-8 (Sigma Aldrich)-WST-8 [2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H tetrazolium,monosodiumsalt], que consiste em uma determinação colorimétrica (este método é semelhante ao método tradicional onde geralmente se emprega o MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenilbrometo de Tetrazolium)).^{22g} Esse ensaio colorimétrico é desenvolvido como um estágio inicial para o “*screening*” de drogas, e mede a quantidade de WST-8 reduzido pela desidrogenase mitocondrial e assume que a viabilidade celular (relativo à atividade reduzida) é proporcional à produção de cristais de *formazan* (violeta), o qual, assim que solubilizado (aproximadamente 2 a 3 horas

após adição de 10µL), foi medido no espectrofotômetro (Leitor de placas Dynex-RXII). O comprimento de onda monitorado foi de 450 nm.

A viabilidade celular foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{Viabilidade celular (VB \%)} = (\text{AbsT} / \text{Abs C}) \times 100$$

Onde:

AbsT: Absorbância do composto testado (composto com as células no meio de cultivo em 24 horas).

AbsC: Absorbância do controle positivo + (células no meio de cultivo sem adição do composto)

Também, utiliza-se o IC₅₀ que representa a concentração de uma droga que é necessária para inibir o crescimento celular em 50% *in vitro*.¹⁵ O IC₅₀ é obtido por meio de um gráfico entre a inibição celular e as diversas concentrações dos compostos, verificando qual é valor da concentração que em 50% inibe o crescimento celular.

3.2.3. Preparação dos compostos para os ensaios citotóxicos *in vitro*

Foram preparadas soluções estoques de 10 mM em DMSO dos compostos: [Ru(mctz)₂(PPh₃)₂], [Ru(mcbtz)₂(PPh₃)₂], [RuCl(mctz)(CO)(PPh₃)₂] e [RuCl(mctz)(κ³-P,O,P-DPEphos)]; dos ligantes: mctz e mcbtz; e do sal de rutênio (triclóreto de rutênio).

Para o *screening* inicial foram preparadas diversas concentrações (5, 20, 100, 200 µM) para obtenção do IC₅₀, para as linhagens celulares HeLa e MCF-7. Para verificar a % de viabilidade celular, os compostos foram testados em concentrações de 50 µM e 100 µM. Para a linhagem celular A458 não foi obtido o IC₅₀, testou-se apenas a % de viabilidade celular nas concentrações citadas acima.

Além dos compostos, testou-se o efeito do solvente DMSO (1%, 20% e 50%) frente às três linhagens celulares. Cabe ressaltar que a concentração final de DMSO não deve ultrapassar 1% devido à toxicidade do solvente. A metodologia empregada nesses ensaios foi adaptada de Von Poelhsitz e colaboradores.^{22g}

3.3. ENSAIOS ANTIBACTERIANOS

Os compostos foram avaliados pela capacidade de inibir o crescimento e/ou verificar a resistência de cepas de bactérias *Escherichia coli* (ATCC 10536) e *Bacillus subtilis* (ATCC 23858). Os testes foram realizados na Universidade Tecnológica

Federal do Paraná, campus Pato Branco, no Laboratório de Qualidade Agroindustrial (LAQUA), através da colaboração do Professor Dr. Mário Antônio Alves da Cunha e da técnica de laboratório Roberta Roncatti.

3.3.1. Condições de cultura e método do ensaio

Todas as manipulações envolvendo as cepas de bactérias e a preparação dos compostos para os testes biológicos foram realizadas em câmara de fluxo laminar.

As cepas de bactérias *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* estavam disponíveis no LAQUA e foram mantidas em estufa a 37°C. As mesmas foram repicadas com o auxílio de alça bacteriológica estéril e descartável para tubos de ensaios contendo ágar nutriente e caldo BHI (*brain heart infusion*) e mantidas em estufa 37°C por 2 dias.

Após o crescimento, as bactérias foram inoculadas (100 µL) em placas de Petry contendo ágar nutriente e homogeneizadas com o auxílio da alça de Drigalski (**Figura 24**). As placas semeadas foram deixadas dentro da câmara de fluxo laminar por aproximadamente cinco minutos para permitir que o excesso de umidade da superfície do ágar fosse absorvido ou o excesso do solvente em um dos métodos.



Figura 23 - Alça de drigalski.

3.3.2. Método do ensaio de atividade antimicrobiana

O método empregado foi o de disco-difusão e o princípio baseia-se na difusão, através do ágar, de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro. A difusão do antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento bacteriano, cujo diâmetro é inversamente proporcional à concentração inibitória mínima (MIC).⁵⁸

Os discos estéreis de 5 mm foram mergulhados com pinças estéreis nas soluções dos compostos testados e aguardou-se 2 minutos para que o solvente evaporasse. Foi testado outro método para avaliar se poderia haver diferenças entre os testes. O outro método não se esperou que o solvente evaporasse (observando se haveria mudanças devido a presença do solvente). Posteriormente os discos foram pressionados suavemente para superfície do ágar e as placas foram mantidas em estufa por 24 horas, à 37°C.

A atividade dos compostos foi medida (mm) de acordo à resposta dos halos de inibição nos antibiogramas. A **Figura 25** apresenta um exemplo ilustrativo de halos de inibição.

A metodologia foi adaptada de Thilagavathi e Jayabalakrishnan ³⁶ e Allardyce, *et al.* ²⁹

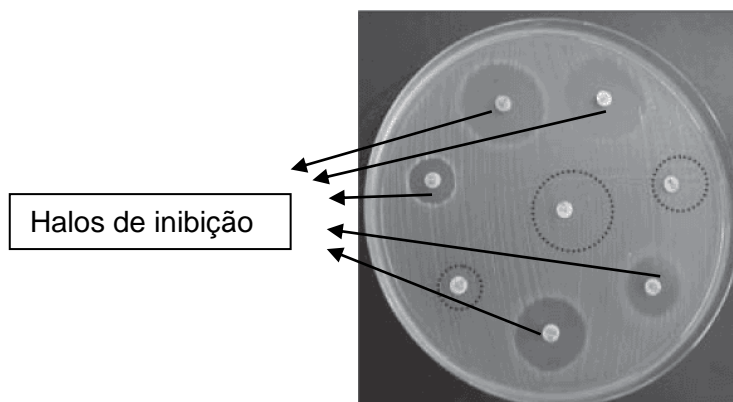


Figura 24- Exemplos de halos de inibição ⁵⁸.

3.3.3 Preparação dos compostos para os ensaios antibacterianos

Foram preparadas soluções de todos os complexos e dos ligantes nas concentrações de 0,5% (5mg em 1mL de DMSO) e 2,0% (10 mg em 0,5mL de DMSO). Como controle positivo foi utilizado o antibiótico gentamicina. Também foi testado o solvente DMSO (P.A).

3.4. SÍNTESES DOS PRECURSORES

Todas as sínteses foram realizadas utilizando técnicas padrão de Schlenk e atmosfera inerte de argônio. A lavagem dos sólidos foi feita ao ar. Todos os solventes utilizados foram previamente desaerados.

3.4.1 $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ ⁵⁹

Em um Schlenk adicionou-se $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0,500 g, $1,91 \times 10^{-3}$ mol) em 500 mL de metanol (MeOH) desaerado e refluxou-se por 15 minutos. Aguardou-se o resfriamento de 0-4 °C (banho de gelo) e adicionou-se o ligante trifenilfosfina (PPh_3) (3,0 g, $13,0 \times 10^{-3}$ mol). A reação foi mantida em refluxo por 4 horas sob agitação. Obteve-se um sólido marrom escuro, o qual filtrou-se e lavou-se com MeOH e hexano quentes para a retirada de excesso de trifenilfosfina livre e oxidada e foi seco sob vácuo. Rendimento: 1,68 g - 92%.

3.4.2 *Trans, trans, trans* $[\text{RuCl}_2(\text{CO})(\text{dmf})(\text{PPh}_3)_2]$ ⁶⁰

Em um Schlenk adicionou-se o complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ (1g, $1,04 \times 10^{-3}$ mol) com 5 mL de N,N-dimetilformamida, posteriormente inseriu-se uma cânula que continha o fluxo de monóxido de carbono mantendo esse fluxo por 2 horas sob temperatura ambiente, assim, obteve-se a formação de um sólido amarelo. Adicionou-se éter etílico para forçar a precipitação. Em seguida filtrou-se e lavou-se com éter etílico o sólido amarelo, e o mesmo foi secado a vácuo. Rendimento: 0,76 g - 92%. RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 35,0$.

3.4.3 *Trans, Mer-* $[\text{RuCl}_2(\kappa^3 \text{P,P,O} - \text{DPEphos})(\text{PPh}_3)]$ ⁶¹

Em um schlenk acrescentou-se a suspensão do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ (1,00 g, $1,04 \times 10^{-3}$ mol) em 40 mL de tetraidrofurano (THF) com o ligante (bis(2-difenilfosfino) fenil) éter -(DPEphos) (0,62 g, $1,15 \times 10^{-3}$ mol). A mistura foi refluxada durante 4 horas. Após, reduziu-se o volume da solução e resultou na formação de um precipitado vermelho. Filtrou-se, lavou-se com éter, e secou-se a vácuo. Rendimento: 0,894 g – 88%. RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: □□ppm□56,0 e 28,7, $J^{\text{P-P}} = 29,4\text{Hz}$.

3.4.4 $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{dppb})_3]$

Em um schlenk adicionou-se uma suspensão do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ (0,4g, $4,17 \times 10^{-4}$ mol) em hexano desaerado por 10 minutos. Em seguida, acrescentou-se o ligante 1,4-bis (difenilfosfina) butano (dppb) (0,4g, $9,3 \times 10^{-4}$ mol) sob agitação e sem aquecimento por 4 horas. Obteve-se a formação de uma solução com precipitado verde a qual filtrou-se e lavou-se com hexano quente e secou-se a vácuo.

3.5 SÍNTESES DOS COMPLEXOS

Para obtenção dos complexos foi necessário em determinadas sínteses utilizar a base trietilamina (NEt_3) para a desprotonação dos ligantes 2-mercaptotiazolina e 2-mercaptobenzotiazolina. Na **Figura 26** segue o esquema geral da desprotonação.

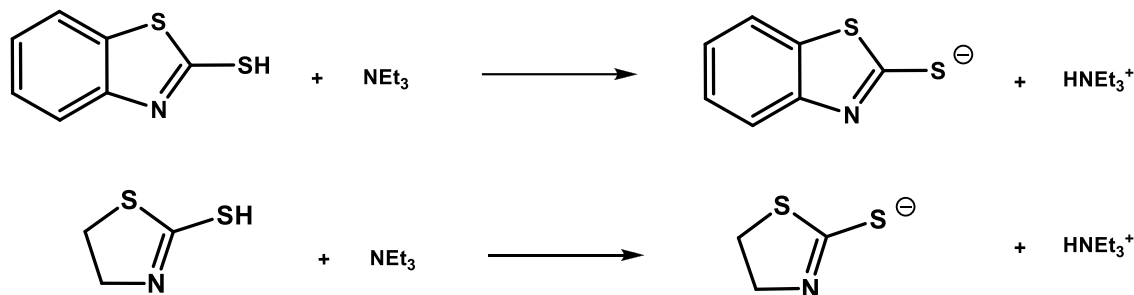


Figura 25- Esquema geral da desprotonação dos ligantes.

3.5.1 $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$

Em um Schlenk adicionou-se o ligante N-S com NEt_3 em 10 mL de MeOH desaerado e deixou-se reagir por 15 minutos sob refluxo e agitação. Em seguida adicionou-se o complexo precursor e deixou-se reagir por 3 horas. Resultou-se na formação de uma solução com precipitado o qual filtrou-se, lavou-se com MeOH desaerado e secou-se a vácuo.

- Ligante mctz (0,019 g - $1,8 \times 10^{-4}$ mol); NEt_3 (26 μL - $1,8 \times 10^{-4}$ mol) e $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ (0,085 g - $8,9 \times 10^{-5}$ mol). Coloração: Amarelo. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 53,5$. Rendimento: 50 mg - 65,8 %.

- Ligante mcbtz (0,035g - $2,0 \times 10^{-4}$ mol); NEt_3 - (30 μL - $2,0 \times 10^{-4}$ mol) e $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ (0,095g - $9,9 \times 10^{-5}$ mol). Coloração: amarelo esverdeado. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 52,2$. Rendimento: 65 mg - 68,5 %.

O complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ foi recristalizado pela evaporação lenta de uma solução de DMC/Hexano e obteve-se o monocristal.

3.5.2 $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$

Adicionou-se em um Schlenk a NEt_3 com o ligante N-S em MeOH e posteriormente (15 minutos), adicionou-se o precursor $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{dppb})_3]$, refluxou-se a

suspensão por 3 horas, a qual originou em uma solução com precipitado. Separou-se o sólido por filtração e lavou-se com MeOH e hexano quente.

- Ligante mctz (0,018g – $1,5 \times 10^{-4}$ mol); NEt_3 (24 μL – $1,7 \times 10^{-4}$ mol) e $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{dppb})_3]$ (0,060g – $3,6 \times 10^{-5}$ mol). Coloração: amarelo. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 52,9$. Rendimento: 26mg – 92,8%.

- Ligante mcbtz (0,047 g – $2,8 \times 10^{-4}$ mol); NEt_3 (40 μL – $2,8 \times 10^{-4}$ mol) e $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{dppb})_3]$ (0,090g – $5,5 \times 10^{-5}$ mol). Coloração: amarelo mostarda. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 51,3$. Rendimento: 41mg – 85,4%

3.5.3 $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$

Em um Schlenk adicionou-se o precursor $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$ com o ligante DPEphos em benzeno por 5 dias sob refluxo e agitação. Acompanhou-se a reação retirando-se alíquotas e analisando-se as mesmas por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Reduziu-se o volume e precipitou-se com hexano. Obteve-se um precipitado o qual filtrou-se, lavou-se com benzeno e secou-se a vácuo.

- $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (0,040g - $4,0 \times 10^{-5}$ mol); DPEphos (0,027g – $5,0 \times 10^{-5}$ mol).Coloração: amarelo mostarda. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 50,0$.

- $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (0,028g - $3,2 \times 10^{-5}$ mol) e DPEphos (0,020g – $3,7 \times 10^{-5}$ mol).Coloração: amarelo mostarda. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 49,00$.

3.5.4 $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$

Em um Schlenk adicionou-se o ligante N-S com NEt_3 em 10 mL de MeOH desaerado e deixou-se reagir por 15 minutos sob refluxo e agitação. Em seguida adicionou-se o precursor [*Trans, Merc-* $[\text{RuCl}_2(\kappa^3 \text{P,P,O - DPEphos})(\text{PPh}_3)]$] por 16 horas sob refluxo e agitação. Acompanhou-se a reação retirando-se alíquotas e analisando-se as mesmas por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Após acrescentou-se MeOH:DCM (10:3 mL) desaerado para solubilizar o precursor que ainda não havia reagido. Posteriormente 12 horas obteve-se uma solução com precipitado amarelo, a qual filtrou-se, lavou-se com MeOH e hexano quente para a retirada de excesso de ligante oxidado e livre. Na **Figura 27** está representado o fluxograma da síntese.

- Ligante mctz (0,013g – $1,09 \times 10^{-4}$ mol); NEt_3 (15 μL – $1,09 \times 10^{-4}$ mol) e [*Trans, Merc-* $[\text{RuCl}_2(\kappa^3 \text{P,P,O-DPEphos})(\text{PPh}_3)]$] (0,050g – $5,12 \times 10^{-5}$ mol). Coloração: amarelo. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 49,7$. Rendimento: 34mg – 88%.

- Ligante mcbtz (0,021g – $1,25 \times 10^{-4}$ mol); NEt_3 (18 μL – $1,28 \times 10^{-4}$ mol) e [*Trans, Merc-* $[\text{RuCl}_2(\kappa^3 \text{P,P,O-DPEphos})(\text{PPh}_3)]$] (0,060g - $6,1 \times 10^{-5}$ mol). Coloração: amarelo mostarda. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 49,00$. Rendimento: 42mg – 85,7%.

A partir da síntese do item 3.4.4 com o precursor $[\text{Ru}(\text{N-S})(\text{PPh}_3)_2]$ obteve-se o mesmo produto do item 3.4.5, porém utilizando o precursor [*trans, Mer-* $[\text{RuCl}_2(\kappa^3 \text{P,P,O - DPEphos})(\text{PPh}_3)]$].

3.5.5 $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mctz})(\text{PPh}_3)_2]$

Para o ligante mctz adicionou-se a trietilamina com o ligante N-S em metanol desaerado por 15 minutos sob refluxo. Em seguida adicionou-se o complexo precursor *trans, trans, trans* $[\text{RuCl}_2(\text{CO})(\text{dmf})(\text{PPh}_3)_2]$ e deixou-se reagir por 4 horas. Observou-se a formação de um precipitado amarelo.

-Ligante mctz (0,012g - $1,0 \times 10^{-4}$ mol) ; NEt_3 (15 μL - $3,4 \times 10^{-5}$ mol) e $[\text{RuCl}_2(\text{CO})(\text{dmf})(\text{PPh}_3)_2]$ (0,065g- $8,1 \times 10^{-5}$ mol). RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 36$. . IV / cm^{-1} $\nu_{(\text{CO})} = 1922$.Rendimento: 46 mg – 74,4%.

3.5.6 $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mcbtz})(\text{PPh}_3)_2]$

Para o ligante mcbtz não adicionou-se a base e o solvente que se utilizou foi o isopropanol. A reação teve tempo de 5 horas. O fluxograma está representado na **Figura 27**.

- Ligante mcbtz (0,028g – $1,6 \times 10^{-4}$ mol) e $[\text{RuCl}_2(\text{CO})(\text{dmf})(\text{PPh}_3)_2]$ (0,065g – $8,1 \times 10^{-5}$ mol). RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta/\text{ppm} = 38,2$. IV / cm^{-1} $\nu_{(\text{CO})} = 1940$ Rendimento: 54 mg – 40%.

3.6 REATIVIDADE COM CO

Os complexos foram testados frente à reação com CO, como descrito abaixo.

3.6.1 Complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$

Adicionou-se uma suspensão de $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (0,0532g, $5,5 \times 10^{-5}$ mol) em um Schlenk com 12 mL de DCM em temperatura ambiente e em seguida acrescentou-se monóxido de carbono (exemplificado no item 3.1.3 obtenção de CO, sendo que no lugar do balão utilizou-se um Schlenk). Deixou-se entrar o gás de monóxido de carbono por 5 minutos sob agitação e fechou-se a tampa, repetiu-se por 4 vezes o procedimento e posteriormente manteve-se por 12 horas sob agitação a solução. Concentrou-se volume e forçou-se a precipitação com hexano. Filtrou-se e lavou-se a solução para obtenção do sólido e secou-se a vácuo. Coloração: laranja. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta\text{ppm} = 39,11$. $\text{IV}/\text{cm}^{-1} \nu_{(\text{CO})} = 1950$.

3.6.2 Complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$

Adicionou-se uma suspensão de $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (0,0382g, $4,4 \times 10^{-5}$ mol) em um Schlenk com 10 mL DCM em temperatura ambiente e em posteriormente adicionou-se o monóxido de carbono (exemplificado no item 3.1.3 obtenção de CO, sendo que no lugar do balão utilizou-se o Schlenk), deixou-se agitar Deixou-se entrar o gás de monóxido de carbono por 5 minutos sob agitação e fechou-se a tampa, repetiu-se por 4 vezes o procedimento e posteriormente deixou-se 12 horas sob agitação a solução. Concentrou-se volume e forçou-se a precipitação com hexano. Filtrou-se e lavou-se a solução para obtenção do sólido e secou-se a vácuo. Coloração: amarelo. Uma mistura de compostos no RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$: $\delta\text{ppm} = 40$ e 60 valores não batem com o espectro.

3.7 REATIVIDADE COM DIMETILSULFÓXIDO (DMSO)

Os complexos foram testados frente à reação com DMSO, conforme descrito abaixo.

3.7.1 $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$

Em um tubo de RMN de 5 mm acrescentou-se aproximadamente 2 mg, $2,3 \times 10^{-3}$ mol do complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ com 420 μL de DMSO. A solução manteve-se insolúvel. Acompanhou-se por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ pelo período de seis dias a possível

formação de outro composto. Através do RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ observou-se uma mudança nos espectros iniciais que será discutida no item 4.8.2.

3.7.2 $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{PPh}_3)_2]$

Em um tubo de RMN de 5mm acrescentou-se aproximadamente 2,5 mg, $2,63 \times 10^{-3}$ mol do complexo $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{PPh}_3)_2]$ com 420 μL de DMSO. A solução mostrou-se solúvel. E acompanhou-se por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ por uma semana a possível formação de outro composto. Através do RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ observou-se uma mudança nos espectros iniciais.

3.7.3 $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mc}btz)_2(\text{PPh}_3)_2]$

Seguiu o procedimento descrito no item 3.6.1. Através da análise RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ observou que esse complexo não apresentou mudanças na sua estrutura inicial, pois os espectros mantiveram-se iguais do precursor.

- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mc}btz)_2(\text{PPh}_3)_2]$: 2g, $2,33 \times 10^{-3}$ mol - 420 μL .

3.7.4 $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$

Seguiu o procedimento descrito no item 3.6.1. Através da análise RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ observou que esse complexo não apresentou mudanças na sua estrutura inicial, pois os espectros mantiveram-se iguais do precursor.

- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$: 2g, $2,47 \times 10^{-3}$ mol - 420 μL ,

3.8 FLUXOGRAMA GERAL DAS SÍNTESES

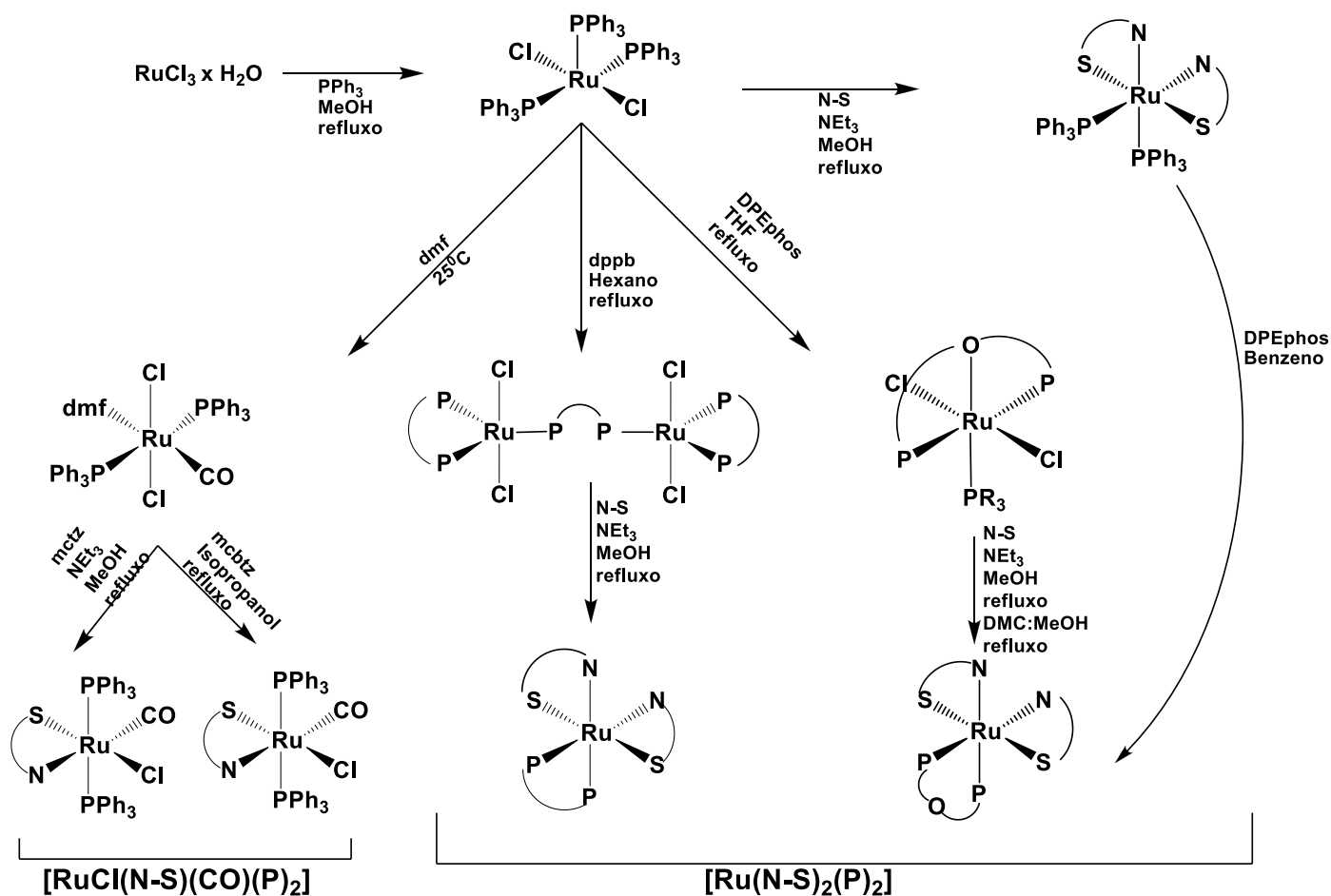
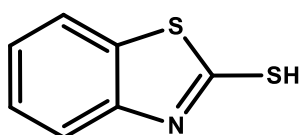
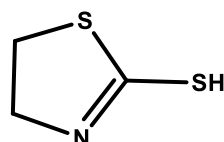


Figura 26- Fluxograma para a síntese dos complexos.



mcbtz



mctz

Ligantes N-S doadores utilizados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. ANÁLISE ELEMENTAR

Os resultados das análises elementares dos compostos estão apresentados na **Tabela 1**. Os valores obtidos estão de acordo com o esperado. Os outros complexos ainda não foram analisados.

Tabela 1- Dados de análise elementar (%C, H, N e S) obtidos de alguns complexos sintetizados.

Complexo	%C	%H	%N	%S
	Exp. / Calc.*	Exp./ Calc.	Exp. / Calc.	Exp./ Calc.
[Ru(mctz) ₂ (PPh ₃) ₂]	58,0/58,51	4,40/ 4,45	3,23/3,25	14,61/ 14,88
[Ru(mcbtz) ₂ (PPh ₃) ₂]	62,34/ 62,67	3,96/ 4,00	2,79/ 2,92	12,75/13,38
[RuCl(CO)(mctz)(PPh ₃) ₂]	58,46/ 59,4	4,26/ 4,25	1,69 / 1,73	7,27/ 7,94
[Ru(mcbtz)(κ ³ -P,P-DPEphos)]	61,69/ 61,70	3,91/ 3,74	2,72/ 2,89	12,26/ 13,19

* Exp.= experimental; Calc.= calculado

4.2. CONDUTIVIDADE MOLAR

Os valores das condutividades molares, realizadas em solução de diclorometano ([complexo] = 10⁻³ mol.L⁻¹), para todos os complexos deste trabalho são compatíveis com soluções não condutoras, indicando a presença de complexos neutros.

4.3. COMPLEXOS DA SÉRIE [RU(N-S)₂(PPH₃)₂]: [RU(MCTZ)₂(PPH₃)₂] E [RU(MCBTZ)₂(PPH₃)₂]

Os complexos desta série foram obtidos através da reação dos ligantes N-S (mctz e mcbtz) previamente desprotonados com NEt₃ e o precursor [Ru(Cl)₂(PPh₃)₂] em metanol sob refluxo, e isolados como sólido amarelo (**Figura 28**). A caracterização dos produtos formados é discutida a seguir.

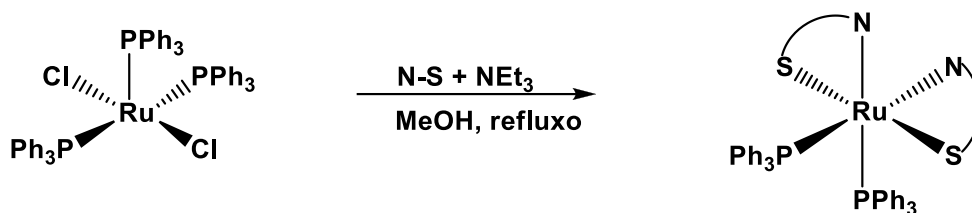


Figura 27- Rota sintética utilizada para a síntese dos complexos $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$.

4.3.1. Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho

As atribuições dos espectros vibracionais na região do infravermelho foram baseadas em comparações com os espectros dos ligantes e dados da literatura. Alguns modos vibracionais são mais facilmente atribuídos, como, por exemplo, o CO, pois aparece em regiões livres de outros modos vibracionais e apresenta-se como banda intensa (destacando-se das demais bandas) e bem descrita na literatura. Porém, cabe ressaltar que as outras atribuições são tentativas, por causa da sobreposição com outros modos vibracionais.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, bem como seus ligantes livres estão representados nas **Figuras 29 e 30**.

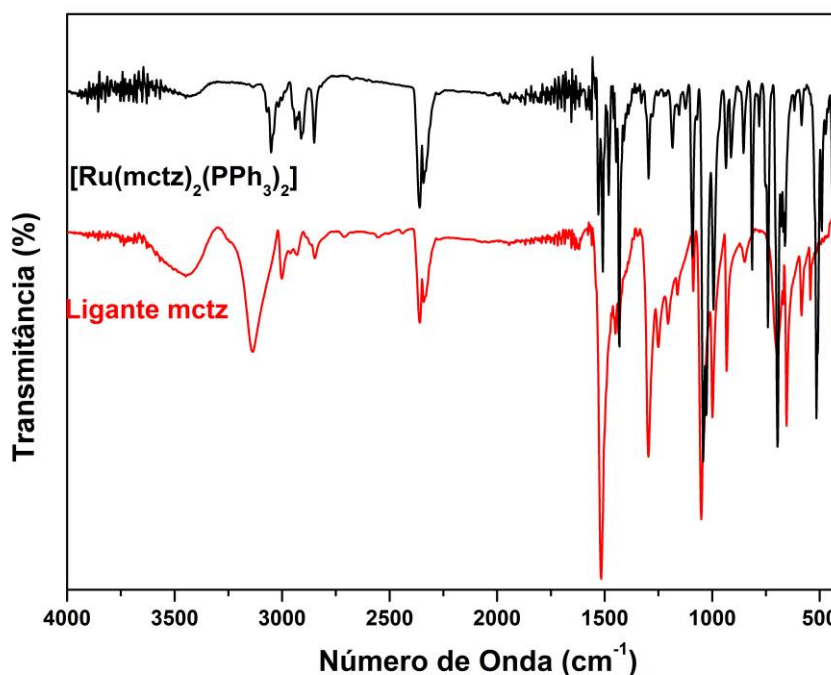


Figura 28 – Sobreposição dos espectros vibracionais na região do infravermelho para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e para o ligante mctz .

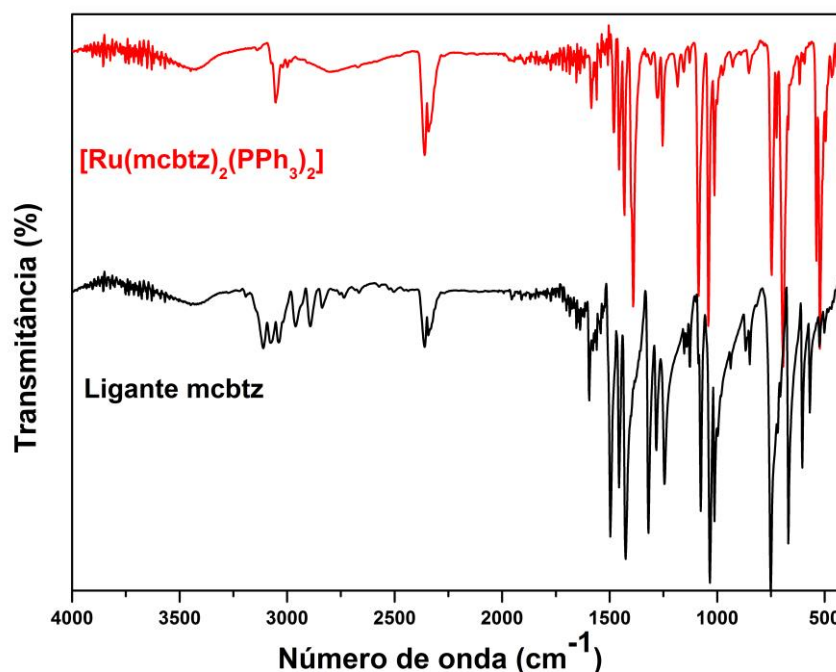


Figura 29- Sobreposição dos espectros vibracionais na região do infravermelho para o complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e para o ligante mcbtz.

Na **Tabela 2** estão apresentadas as principais atribuições tentativas dos espectros vibracionais na região do infravermelho.

Tabela 2- Atribuição dos principais estiramentos observados para a série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (valores em cm^{-1})

Série	Mctz	Mcbtz
$[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$	$\nu_{\text{C-S}}$ 695 (F), $\nu_{\text{C=N}}$ 1505 (f) $\nu_{\text{C-H}}$ 3061(f), $\nu_{\text{P-C}}$ 514(F), 1040(F), 995(F), 1085(F)	$\nu_{\text{C-S}}$ 695(F); $\nu_{\text{C=N}}$ 1483 (f) $\nu_{\text{P-C}}$ 538(M), 523(M), 1038(F), 1086(F)

*Legenda: F – Forte; M – Média; f- fraca.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram comparados com os ligantes livres. Uma banda de média intensidade de 3144 cm^{-1} no espectro do ligante livre pode ser atribuído $\nu(\text{N-H})$. Observou que os complexos não apresentaram bandas na região $3400\text{-}3100 \text{ cm}^{-1}$ correspondentes ao $\nu_{\text{N-H}}$. Também o estiramento de S-H ($2550\text{-}2600 \text{ cm}^{-1}$)^{62 63} não aparece nos espectros dos complexos formados e nem

nos ligantes livres. Dessa forma, inicialmente pode-se prever a coordenação dos ligantes na sua forma desprotonada e em concordância com a literatura^{50 64 65}.

Ainda, visualizou-se uma banda de vibração forte sugerida ao estiramento C-S (695 cm^{-1}) indicando a coordenação através do átomo de enxofre na forma tiolato. Também, os estiramentos entre 1430 – 1600 cm^{-1} ($\text{C}=\text{N}$) confirmam que o ligante está na forma $-\text{C}=\text{N}-$ do anel heterocíclico, assim, confirmando mais uma vez a coordenação na forma aniônica ao rutênio⁶⁶. Os estiramentos fracos em 3061 e 3058, são atribuídos a grupos CH_2 dos ligantes⁶⁶.

As bandas referentes ao estiramento $\nu_{\text{P-C}}$ da trifenilfosfina (região de 1400, 1200-1000 e 500 cm^{-1}) estão em concordância com os valores encontrados na literatura⁶⁷ e demonstram a coordenação do ligante ao centro metálico. Esses dados são reforçados no RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^1H .

4.3.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e de ^1H

Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$ apresentaram apenas um simpleto, referente aos núcleos de fósforo em ambientes químicos equivalentes⁶⁸ ou seja, coerente com a presença de um ou dois átomos de fósforo.

O complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ apresentou deslocamento químico em 53,5 ppm (**Figura 31**) e o complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ em 52,2 ppm.

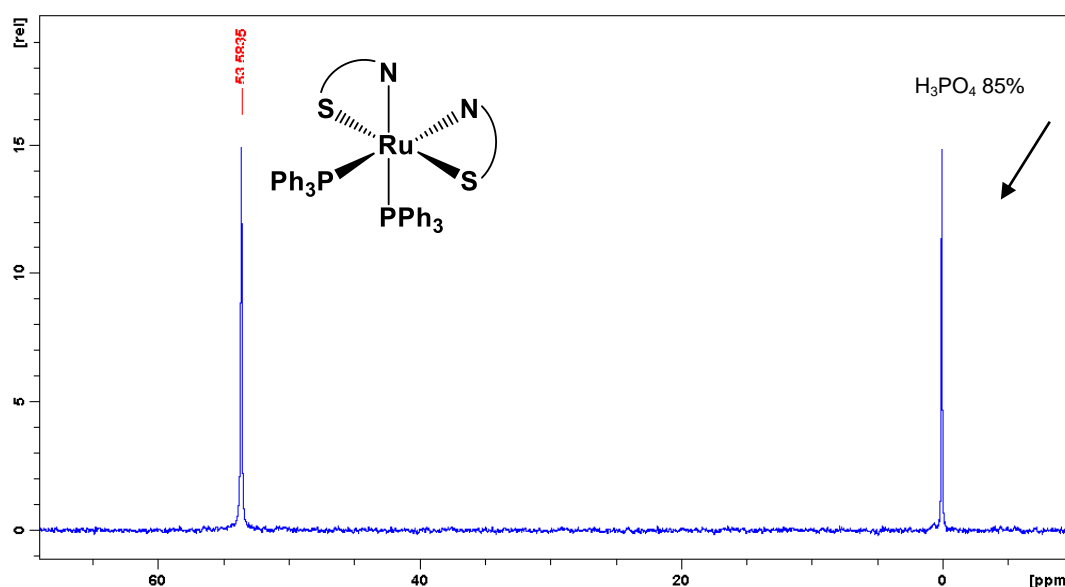


Figura 30 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (referência usada H_3PO_4 85%, em DCM).

Essa diferença no deslocamento químico pode estar relacionada com o caráter mais básico do ligante mctz ($pK_a = 11,00$) do que o ligante mcbtz ($pK_a = 6,93$)⁶⁹. A diferença nos valores de pK_a deve-se a presença de um anel aromático no ligante mcbtz (hibridização sp^2), estabilizando a base conjugada, através da deslocalização da carga negativa.

O espectro de RMN de 1H para o composto $[Ru(mctz)_2(PPh_3)_2]$ (**Figura 32**) confirma a coordenação do ligante mctz ao íon metálico. Na faixa de deslocamento químico entre 2 a 3 ppm são os hidrogênios metilenos da 2-mercaptotiazolina, com integração dos sinais em 8 hidrogênios (4 metilenos do ligante mctz) e 30 hidrogênios (aromáticos da trifenilfosfinas) são compatíveis com a formulação proposta (**Figura 28**).

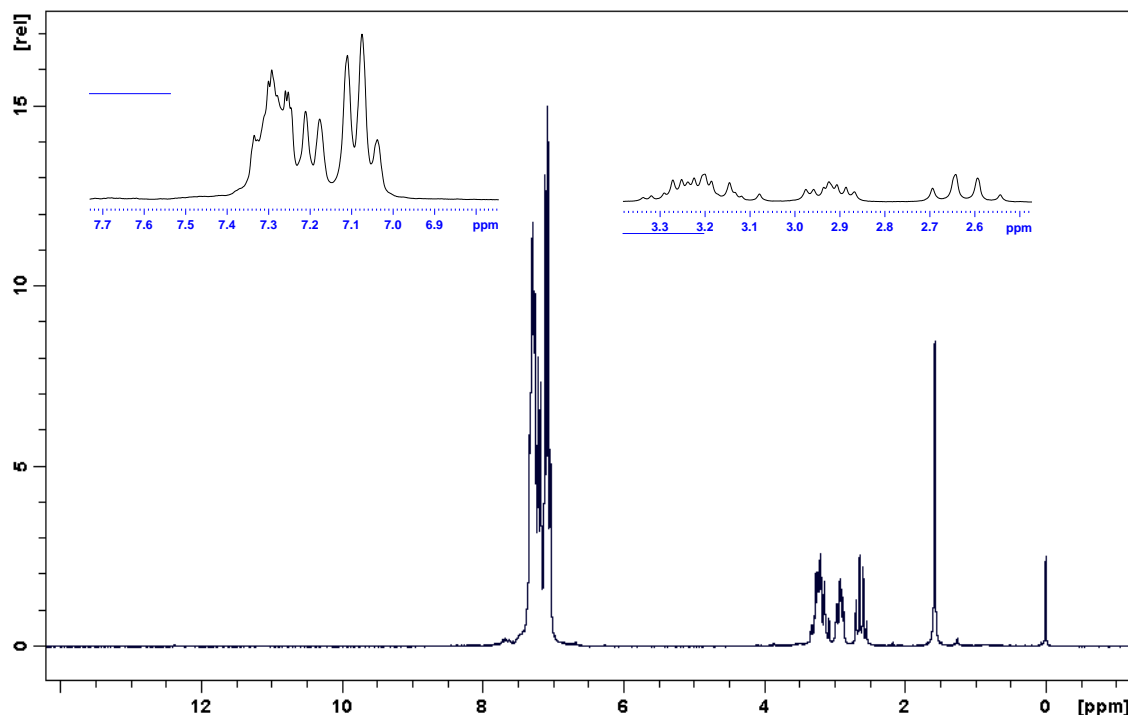


Figura 31- Espectro de RMN de 1H para o complexo $[Ru(mctz)_2(PPh_3)_2]$.

Na **Figura 33** é apresentado os espectros RMN de 1H do ligante livre mcbtz com o produto formado $[Ru(mcbtz)_2(PPh_3)_2]$, sendo possível observar a coordenação do ligante mcbtz ao centro metálico de rutênio, confirmado pela ausência do hidrogênio ácido na região mais desprotegida (12 ppm), conforme também relatado em outros estudos^{47d}. De acordo com a literatura nas faixas de deslocamento químico de 6,5 a 8 ppm são encontrados os hidrogênios de anéis aromáticos da fosfina, os mesmos são desblindados pelo grande campo anisotrópico gerado pelos elétrons do sistema π do anel⁷⁰. No espectro do produto é visualizado a presença desses nessa

faixa, de fato são os hidrogênios aromáticos dos ligantes PPh_3 e do anel benzênico do ligante mcbtz, entrando em concordância com a integração dos sinais em 38 hidrogênio aromáticos presentes no produto formado.

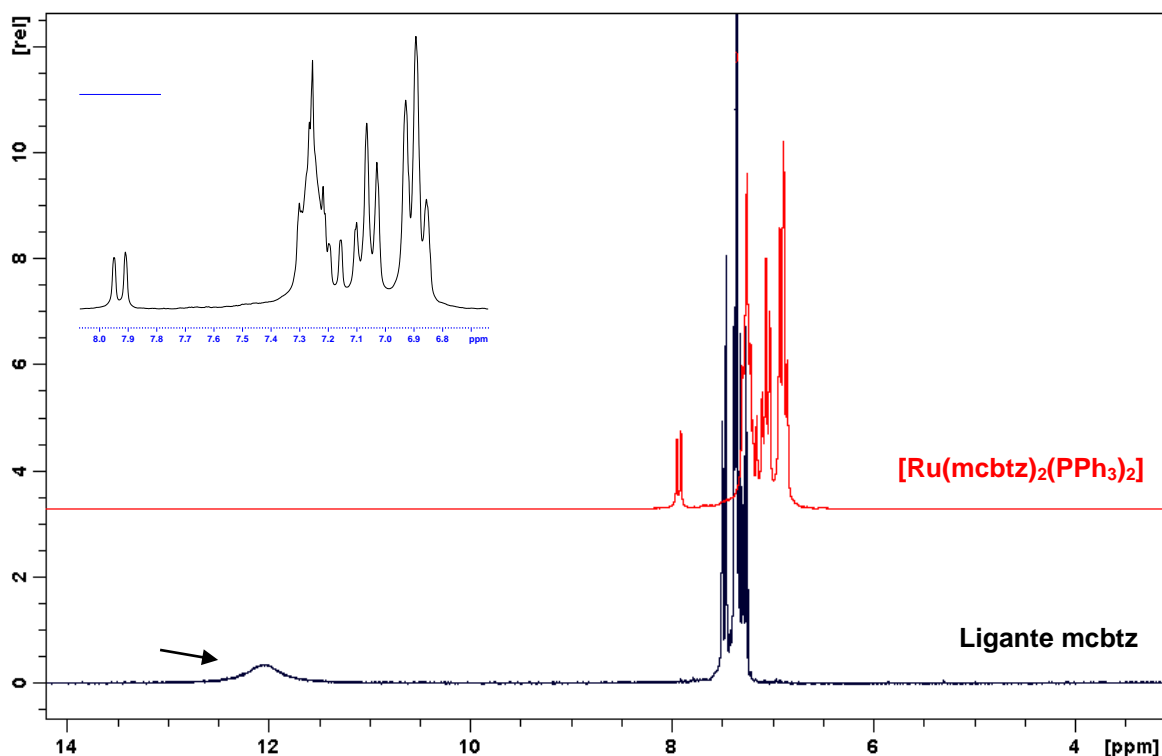


Figura 32- Sobreposição dos espectros de RMN de ^1H do ligante mcbtz com o complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (e a ampliação da região dos hidrogênio aromáticos do produto).

Para a formulação $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$ são possíveis 5 isômeros que estão representados na **Figura 34** (a,b,c,d,e). Porém, de acordo com o RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, pode-se descartar o isômero (a), pois o mesmo não resultaria em um simpleto, mas em dois dupletos, porque os átomos de fósforos não estão em ambientes químicos equivalentes. Os isômeros (b) e (c), que possuem as duas trifenilfosfinas em posição *trans* uma em relação à outra, apresentariam um simpleto no espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, porém de acordo com a literatura ⁷¹, fosfinas em posição *trans* tendem a ter deslocamentos químicos menores (mais protegidos), estando em discordância com os deslocamentos químicos encontrados. Já os isômeros (d) e (e) são compatíveis com os dados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, mas de acordo com a estrutura de raios-X, o isômero (e) foi o isômero isolado, onde os átomos de nitrogênio estão em posição *trans* em relação as trifenilfosfinas.

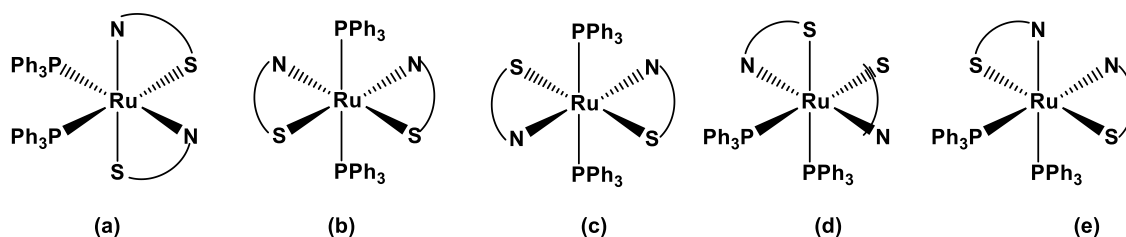


Figura 33 – Isômeros propostos para a série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$.

4.3.3. Difração de Raios X

A estrutura do complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, foi determinada por difração de raios X. Os dados cristalográficos e de refinamento para o complexo é apresentado na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Dados cristalográficos e refinamento para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$.

$[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$	
Formula Molecular	$\text{C}_{42} \text{H}_{38} \text{N}_2 \text{P}_2 \text{Ru S}_4$
Sistema Cristalino	Triclinico
Grupo espacial	P_{-1}
Dimensão da cela	
a (Å)	11.1565 (3)
b (Å)	13.4199 (4)
c (Å)	14.8929 (4)
α (°)	77.6020 (10)
β (°)	71.3080 (10)
γ (°)	65.5190 (10)
Z	2
Wr2	0,0665
Fator R	0,0282

A unidade assimétrica é formada por apenas uma molécula do complexo e a cela unitária é composta por duas moléculas. Devido à baixa simetria da cela do mono cristal, as distâncias e ângulos de ligação apresentam diferenças significativas.

O complexo possui um arranjo com centro metálico de rutênio, sendo de um octaédrico distorcida (**Figura 35**), conforme evidenciado pelas distâncias e ângulos de ligação (**Tabelas 4 e 5**). As caracterizações por espectroscopia vibracional na região do infravermelho, RMN de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (em solução) condizem com a estrutura encontrada.

Devido ao impedimento estérico da trifenilfosfina, o ângulo de ligação P–Ru–P (100,990(19)°) é maior do que o ângulo de um octaedro regular. Por outro lado, os ângulos N–Ru–S (67,09 (5) e 66,33(5)°) são menores do que 90°, devido à formação de anéis quelatos de quatro membros.

Na **Figura 35**, está a representação ORTEP da estrutura do complexo [Ru(mctz)₂(PPh₃)₂].

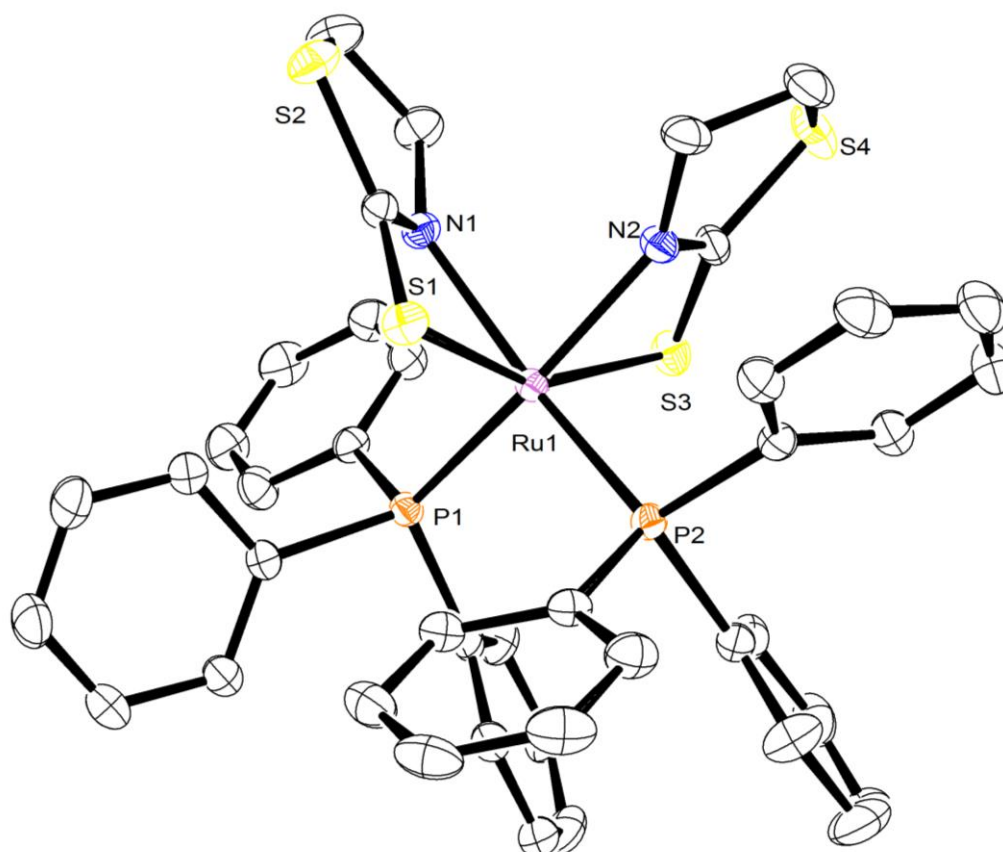


Figura 34 - Representação ORTEP do complexo [Ru(mctz)₂(PPh₃)₂], com 30% de probabilidade nas elipsoides.

A partir da estrutura foi possível definir a posição dos ligantes coordenados ao íon metálico. O complexo possui duas trifenilfosfinas mutuamente em posição *cis* e ambas estão em posição *trans* aos nitrogênios do ligante mctz. Complexo similar foi reportado por Lobana e colaboradores, onde o complexo [Ru(HpymS)₂(PPh₃)₂] (HpymS= 2-mercaptopirimidina), também possui os átomos de fósforos (PPh₃) em posição *cis* e em posição *trans* aos átomos de nitrogênio ^{47d}.

Tabela 4 - Principais distância de ligação para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$.

Ligação	Distâncias / (Å)
Ru1 –N1	2.1891 (16)
Ru1–N2	2.1462 (16)
Ru1–P1	2.3031(5)
Ru1–P2	2.2844(5)
Ru1–S1	2.4165 (5)
Ru1–S3	2.4586 (5)

Tabela 5 - Ângulos de ligação para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$.

Ligação	Ângulos / (°)
P(2)- Ru(1)-P(1)	100,990 (19)
N(1)-Ru(1)-S(1)	67,09 (5)
P(2)-Ru(1)-S(1)	94,873 (19)
P(1)-Ru(1)-S(1)	100,945 (19)
N(2)- Ru(1)-S(3)	66,33 (5)
N(2)-Ru(1)-N(1)	80,53 (6)
S(1)-Ru(1)-S(3)	154,57(2)

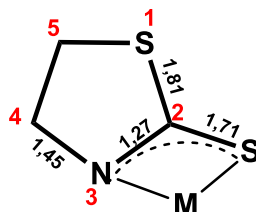
Para comparar o comprimento de ligação do ligante 2-mercaptotiazolina coordenado ao centro metálico utilizaram-se valores reportados na literatura, conforme a **Tabela 6**.

Sabe-se que as ligações simples são mais longas do que as ligações múltiplas⁷². Assim, observando os valores tabelados, pode-se dizer que a ligação simples C-N (hibridização sp^3) não é observada na ligação entre o C2 com o N3 (**Figura 36**), dessa maneira, pode-se presumir que pelo comprimento de ligação o valor está bem próximo de uma dupla ligação C=N (hibridização sp^2) mostrando a coordenação do ligante na forma tautomérica tiolato. Na ligação C2-S1, verifica-se que o valor de 1,8 (Å) está em concordância com a simples ligação, já quando comparamos com o C2 com o outro enxofre do exocíclico, observa-se que essa ligação é mais próxima da dupla. Na **Figura 36** é ilustrado as distâncias encontradas nesse trabalho.

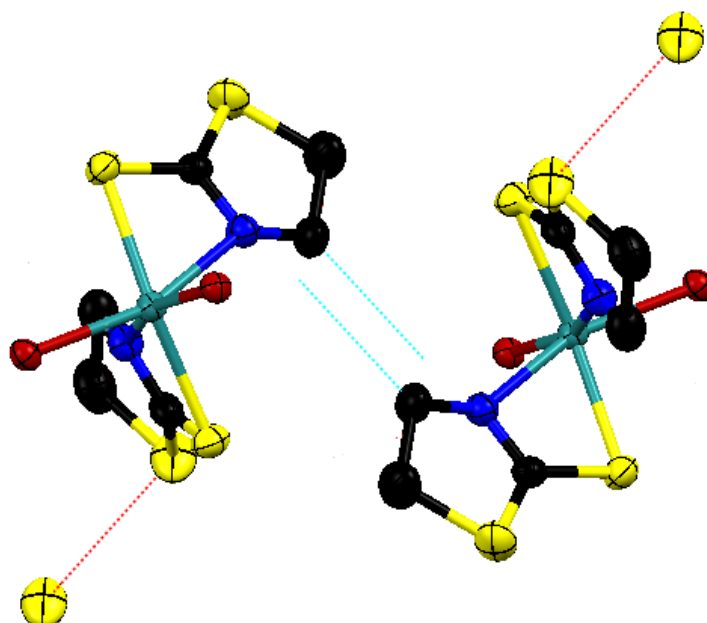
Tabela 6 – Comprimentos de Ligações.

Comprimento de Ligação (Å)							
#C-N	1,47	#C-S	1,81	*C-N	1,45	*C-S	1,81
#C=N	1,27	#C=S	1,67	*C=N	1,27	*C=S	1,71

Dados da literatura – valores médios ^{72 73} / * Dados obtidos neste trabalho.

**Figura 35** – Estrutura do ligante mctz com os comprimentos de ligação.

Para explicar as distorções que ocorrem no complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, fez-se a análise da célula unitária, através do diagrama de empacotamento (simplificado) (**Figura 37**). Neste diagrama foi possível verificar que as interações intermoleculares geram uma distinção dos ligantes ao redor do centro metálico. Um dos ligantes mctz coordenado ao rutênio possui uma interação $\text{S} \cdots \text{S}$ a curta distância envolvendo o átomo de enxofre endocíclico, enquanto que a outra mctz possui interações intermoleculares $\text{C} \cdots \text{H}$.

**Figura 36** – Diagrama de empacotamento do Complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$. Os anéis aromáticos da PPh_3 e os hidrogênio foram omitidos para facilitar a visualização das interações intermoleculares.

As distâncias e ângulos de ligação foram comparados com alguns trabalhos encontrados na literatura com ligantes N-S ($[\text{Ru}(\text{HpymS})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (HpymS= 2-mercaptopirimidina **(1)** e $[\text{Ru}(\text{dppp})(\text{pyS})_2](\text{dppp}, \text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_3\text{PPh}_2)(\text{pys}=2\text{-mercaptopiridina (2)})$). Observou-se que as distâncias de ligações entre Ru–S e Ru–P, e os ângulos S–Ru–S e N–Ru–S (**Tabela 4**) estão próximos aos valores médios reportados na literatura para outros complexos ^{47d 47c}.

Os ângulos P–Ru–P do complexo **2** possuem uma diferença significativa comparado com o complexo **1** e o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (reportado neste trabalho). Assim, pode-se sugerir que essa diferença é dada aos ligantes fosfínicos distintos (bifosfinas e trifenilfosfinas), pois o complexo **1** e o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ possuem valores próximos, e ambos apresentam uma monofosfina.

As distâncias de Ru–P para os três compostos são muito similares mostrando que o átomo de fósforo está fortemente coordenado ao centro metálico. A distância Ru–S também está próxima para os três casos e todos possuem coordenação na forma aniônica do ligante N–S. Porém, a distância Ru–N, demonstra uma disparidade para o complexo apresentado quando comparado com os demais, a ligação é mais longa.

Tabela 7 – Comparação entre distâncias de ligação (Å) e ângulos do complexo (3) $[\text{Ru}(\text{mctz})(\text{PPh}_3)_2]$ com trabalhos da literatura.

	Ru-N	Ru-S	Ru-P	S-Ru-S	N-Ru-N	P-Ru-P	N-Ru-S	Ref.
1	2.112	433	2.321	153.02	83.46	96.07	67.2	^{47d}
2	2.131	2.421	2.277	153.9	84.5	90.7	67.5	^{47c}
*3	Ru-N1	Ru-S1	Ru-P1	S1-Ru-S3	N2-Ru-	P2-Ru-P1	N1-Ru1-S1	Este trab.
	2.1891	2.416	2.3021	154.57	N1	100.99	67.09	
					80.53			
	Ru-N2	Ru-S3	Ru-P2				N2-Ru1-S3	
	2.146	2.458	2.2844				66.33	

*** 3 – $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ - Neste trabalho não foi realizado uma média dos valores.**

4.4. COMPLEXOS DA SÉRIE $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{dppb})]$: $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$

Os complexos desta série foram obtidos através da reação dos ligantes N-S (mctz e mcbtz) previamente desprotonados com NEt_3 e com precursor binuclear $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{dppb})_3]$ em metanol sob refluxo, e isolados como um sólido amarelo (**Figura 38**). A caracterização dos produtos formados é discutida a seguir.

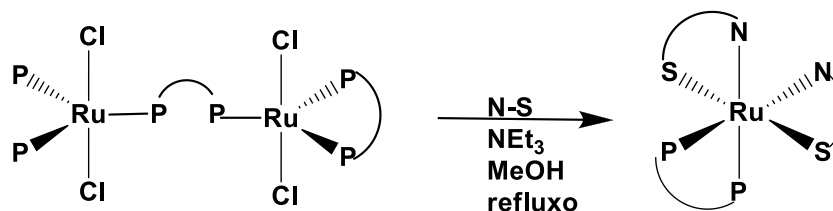


Figura 37 – Rota utilizada para a síntese dos complexos $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{dppb})]$.

4.4.1. Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho

Nas **Figuras 39 e 40** estão representadas os espectros vibracionais na região do infravermelho para os dois complexos da série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{dppb})]$.

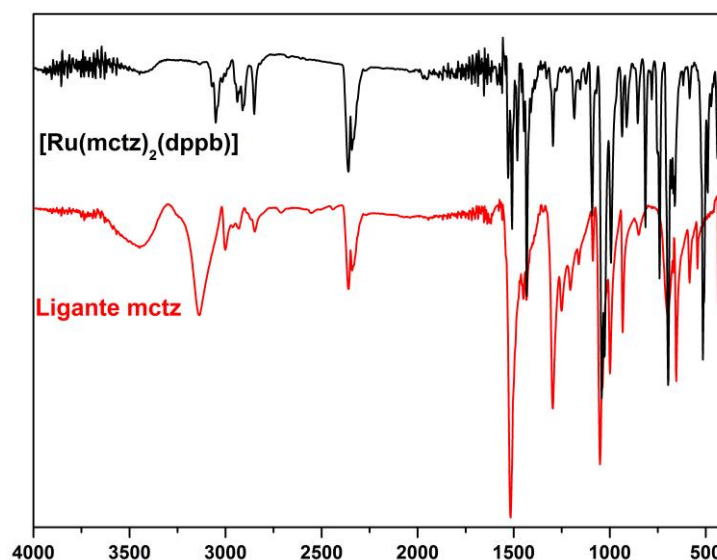


Figura 38 - Sobreposição dos espectros vibracionais na região do infravermelho para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{dppb})]$ e para o ligante mctz.

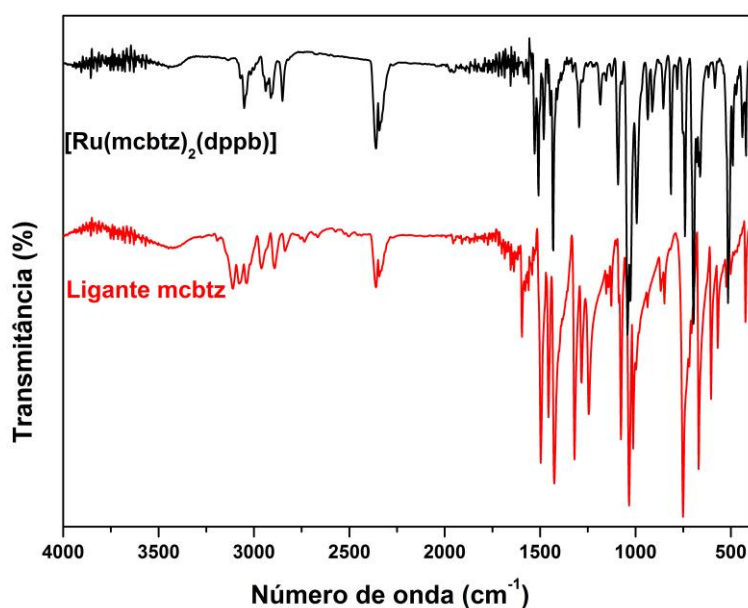


Figura 39 – Sobreposição dos espectros vibracionais na região do infravermelho para o complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ e para o ligante mcbtz.

Na **Tabela 8**, estão apresentadas as principais atribuições tentativas dos espectros vibracionais na região do infravermelho.

A partir dos estiramentos de forte intensidade $\nu_{\text{P-C}}$, característico de ligantes fosfínicos, confirmou-se a presença do ligante bifosfínico. Além desses, observou-se estiramentos fracos característicos de grupos CH_2 dos ligantes em 3051 cm^{-1} (mctz) a $3058 (\text{mcbtz}) \text{ cm}^{-1}$, coordenados ao centro metálico.

Tabela 8 - Atribuição dos principais estiramentos observados para a série de complexos da série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{dppb})_2]$ (valores em cm^{-1})

Série	Mctz	Mcbtz
$[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{dppb})]$	$\nu_{\text{C-S}}$ 692(F), $\nu_{\text{C-H}}$ 3051(f), $\nu_{\text{C=N}}$ 1517 (f) $\nu_{\text{P-C}}$ 546(M), 1040(F), 1085 (F)	$\nu_{\text{C-S}}$ 695(F); $\nu_{\text{C-H}}$ 3058(f), $\nu_{\text{C=N}}$ 1506 (f) $\nu_{\text{P-C}}$ 512(F), 1041(F), 990(f).

Legenda: F – Forte; M – Média; f- fraca.

Não foram observadas bandas de estiramento S-H ($2550\text{-}2600 \text{ cm}^{-1}$)^{62 63} nos complexos formados e nem nos ligantes livres, também sinais referentes ao estiramento N-H na região em torno de $3200\text{-}3100$ não foi encontrado. Segundo a literatura, na região em torno de $1500\text{-}1590 \text{ cm}^{-1}$ são encontrados os modos de vibrações de $\nu_{\text{C=N}}$, os quais estão presentes neste trabalho. No trabalho de

Abbehausen e colaboradores, esse estiramento é observado em 1537 cm^{-1} , enquanto que nos complexos $[\text{Ru}(\text{mctz})(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})(\text{dppb})]$ esse estiramento em 1517 cm^{-1} e 1505 cm^{-1} , respectivamente. O modo vibracional $\nu_{\text{C-S}}$ aparece na faixa em de $750\text{--}620\text{ cm}^{-1}$ ⁵⁰. Dessa forma, pode-se confirmar a coordenação dos ligantes na forma desprotonado ao íon metálico ⁷⁴.

4.4.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^1H

Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ desta série apresentaram somente um simpleto, coerente com os espectros referentes a dois núcleos de fósforo equivalentes coordenados ao metal rutênio. Os valores do deslocamento químico para os complexos $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ (**Figura 41**) são, δ 53,8 ppm e δ 51,2 ppm, respectivamente.

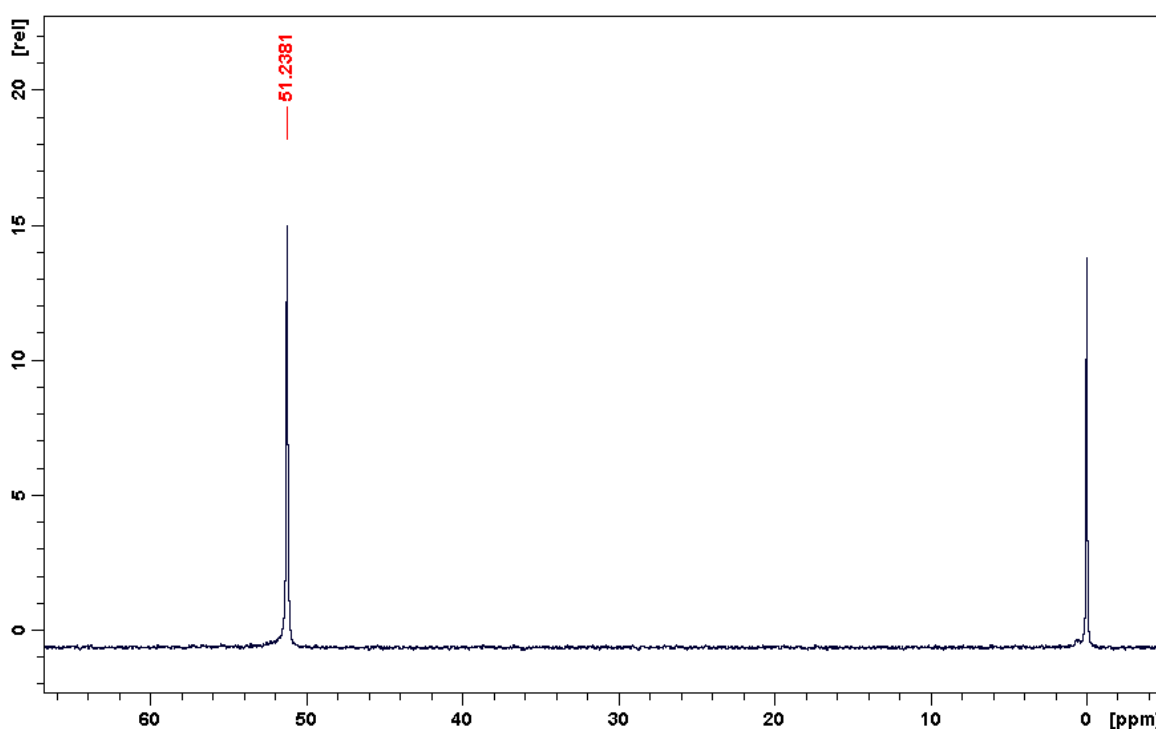


Figura 40-- Espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para a série $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$.

Em função da similaridade com os deslocamentos químicos dos complexos da série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$, pode-se preliminarmente, assumir que o isômero isolado é o que contém os átomos de fósforo *trans* aos átomos de nitrogênio. Além, disso as correlações dos deslocamentos químicos obtidos estão de acordo com a literatura para átomos de fósforo *trans* a átomos de nitrogênio (faixa de 40 a 56 ppm), conforme reportado por Batista e colaboradores ⁷⁵.

O aumento da basicidade desses ligantes (mctz e mcbtz) influencia na diferença dos deslocamentos químicos da RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Pode-se associar ao fato de que o ligante mctz ser mais básico que o ligante mcbtz, possuindo uma maior densidade eletrônica, e assim, desblindando o núcleo de fósforo e consequentemente aumentando o deslocamento químico no RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. A diferença nos deslocamentos químicos não é muito significativa, mas está associada aos valores de pKa dos ligantes N-S.

Na **Figura 42** está representado o espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$, onde observa-se que o ligante mcbtz está possivelmente coordenado ao rutênio, devido a ausência do hidrogênio ácido (12 ppm). A partir de dados encontrados na literatura nas faixas de deslocamentos químicos de 1,6 a 2,8 ppm são referentes a hidrogênios ligados a um carbono adjacente a uma dupla ligação (hidrogênios alílicos) ⁷⁰. Os resultados espectroscópicos de RMN para esse complexo revelam multipletos na faixa de 1,6 a 3,0 ppm, estando em concordância com os hidrogênios do butano presentes no ligante 1,4-bis (difenilfosfina) butano. Há multipletos na faixa de 6,7 a 8 ppm, presentes nas bifosfinas e do anel benzênico da 2-mercaptobenzotiazolina. A integração dos sinais em 32 hidrogênios aromáticos e 8 hidrogênios alifáticos corrobora com a presença de 1 dppb bidentado e dois ligantes mcbtz coordenados.

Para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{dppb})]$ a RMN de ^1H está de acordo com a estrutura proposta (**Figura 39**), assim como a integração dos sinais 24 hidrogênios aromáticos da dppb e 16 hidrogênio alifáticos concordam com a presença de 1 dppb e dois ligantes mctz coordenados ao rutênio.

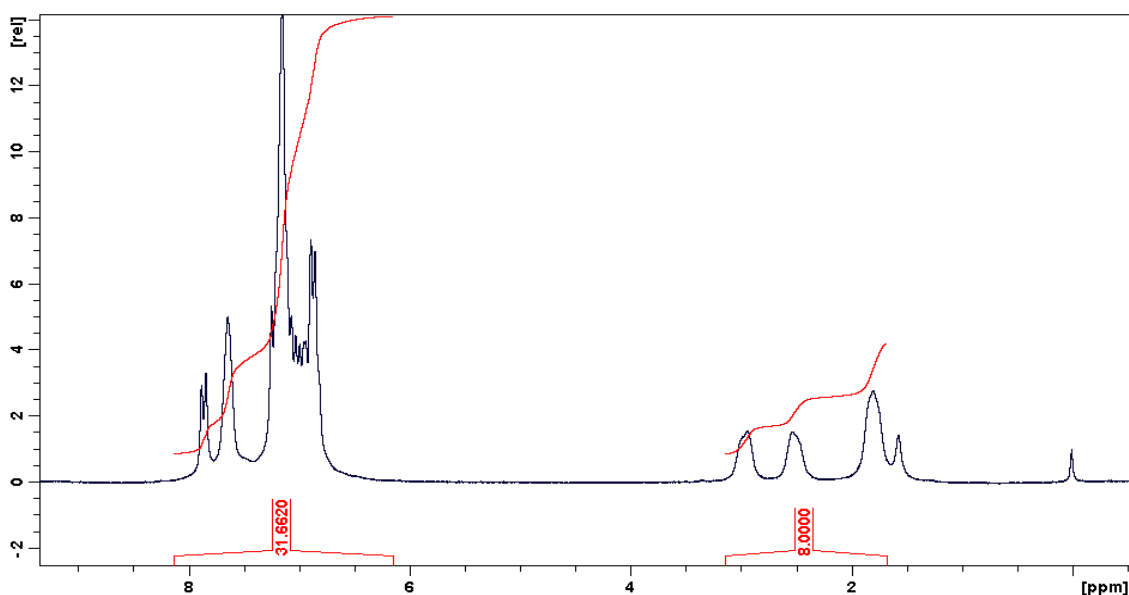


Figura 41 - Espectros de ^1H para o complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$.

A partir dos espectros da RMN de $P\{^{31}H\}$ e 1H foi possível propor três isômeros (1,2 e 3) para a formulação $[Ru(N-S)_2(dppb)]$ apresentados na **Figura 43**. Em função da similaridade com os espectros dos complexos da série $[Ru(N-S)_2(PPh_3)_2]$, pode-se preliminarmente, confirmar que o isômero 3 é a estrutura proposta.

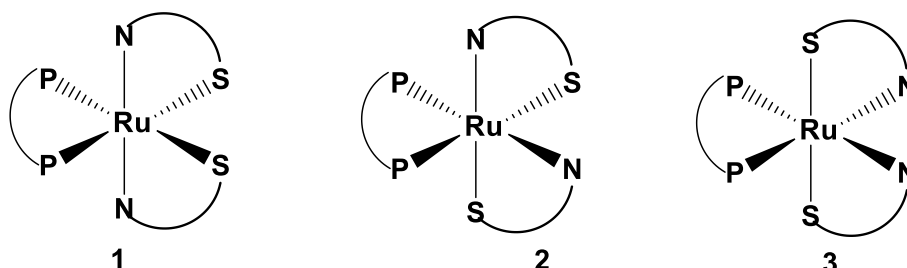


Figura 42 - Isômeros possíveis para a série $[Ru(N-S)_2(dppb)]$.

4.5. COMPLEXOS DA SÉRIE $[Ru(N-S)_2(\kappa^2-P,P-DPEPHOS)]$: $[Ru(MCTZ)_2(\kappa^2-P,P-DPEPHOS)]$ E $[Ru(MCBTZ)_2(\kappa^2-P,P-DPEPHOS)]$

Os complexos dessa série podem ser obtidos por meio de duas rotas sintéticas representadas nas **Figuras 44** e **45**. A caracterização dos complexos formados é discutida a seguir.

Rota 1

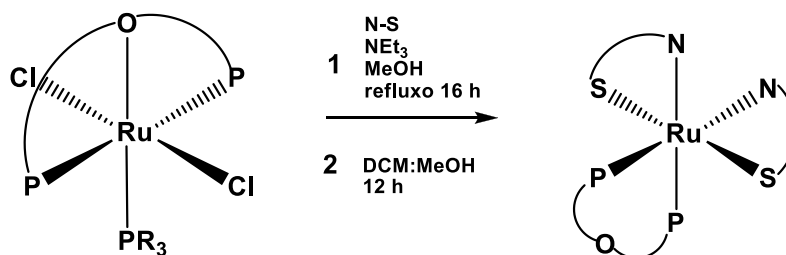


Figura 43 – Rota (1) utilizada para a síntese dos complexos $[Ru(N-S)_2(\kappa^2-P,P-DPEphos)]$.

Rota 2

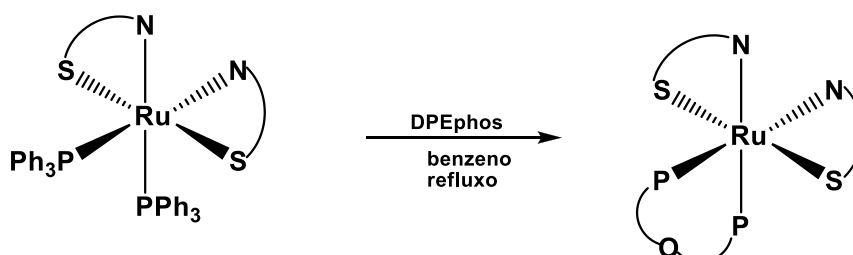


Figura 44 – Rota (2) utilizada para a síntese dos complexos $[Ru(N-S)_2(\kappa^2-P,P-DPEphos)]$.

4.5.1. Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho

Na **Tabela 9**, observa-se as principais atribuições tentativas para a série [Ru(N-S)(κ^2 -P,P-DPEphos)]. A partir dos estiramentos de forte intensidade ν_{P-C} , característico de ligantes fosfínicos terciários, confirmou-se a presença do ligante. Também, não foi observado estiramentos referentes ao modo vibracional ν_{N-H} e ν_{S-H} nos complexos, confirmando assim, a coordenação dos ligantes na forma aniônica.

Tabela 9 - Atribuições dos principais estiramentos observados para a série de complexos da série [Ru(N-S)(κ^2 -P,P-DPEphos)] (valores em cm^{-1}).

Série	Mctz	Mcbtz
[Ru(N-S)(κ^3 -P,O,P-DPEphos)]	$\nu_{\text{(C-S)}}$ 664 (F); $\nu_{\text{(C=N)}}$ 743 (M); $\nu_{\text{(C-O-C)}}$ 1087(M), 869(f). $\nu_{\text{(P-C)}}$ 1432 (F), 1000 (M), 518 (F);	$\nu_{\text{(C-S)}}$ 692 (F); $\nu_{\text{(C=N)}}$ 743 (M); $\nu_{\text{(C-O-C)}}$ 1085(M), 868(f). $\nu_{\text{(P-C)}}$ 1379 (F), 1433 (F), 1040 (f), 556 (F);

Legenda: F – Forte; M – Média; f- fraca.

Segundo a literatura éteres dialquílicos possuem estiramento C-O-C assimétrico em aproximadamente 1120 cm^{-1} e uma banda de estiramento simétrico em aproximadamente 850 cm^{-1} , a qual é muito fraca e pouco definida ⁷⁰. Assim, os complexos sintetizados são observados sinais referentes ao modo vibracional $\nu_{\text{C-O-C}}$ assimétrico na região de 1085 cm^{-1} e simétrico em 868 cm^{-1} para o complexo [Ru(mcbtz)(κ^2 -P,P-DPEphos)], e para o [Ru(mctz)(κ^2 -P,P-DPEphos)] $\nu_{\text{C-O-C}}$ assimétrico na região de 1087 cm^{-1} e simétrico em 860 cm^{-1} , confirmando a coordenação dos átomos de fósforos ao íon metálico, pois não foi encontrado o modo vibracional Ru-O.

4.5.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^1H

Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos da série [Ru(N-S) $_2$ (κ^2 -P,P-DPEphos)] apresentaram apenas um simpleto, referente aos núcleos de fósforo em ambientes químicos equivalentes ⁶⁸ ou seja, coerente com a presença de um ou dois átomos de fósforo.

O complexo [Ru(mctz) $_2$ (κ^2 -P,P-DPEphos)] apresentou deslocamento químico em 49,7 ppm e o complexo [Ru(mcbtz) $_2$ (κ^2 -P,P-DPEphos)], deslocamento químico em 50 ppm (**Figura 46**).

Cabe ressaltar que durante a reação da rota sintética **2**, foram retiradas alíquotas e analisadas por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Então, foi observado o sinal da trifenilfosfina livre em δ - 5 ppm, consequência da saída do ligante PPh_3 e a formação dos novos complexos, conforme é observado na **Figura 46**.

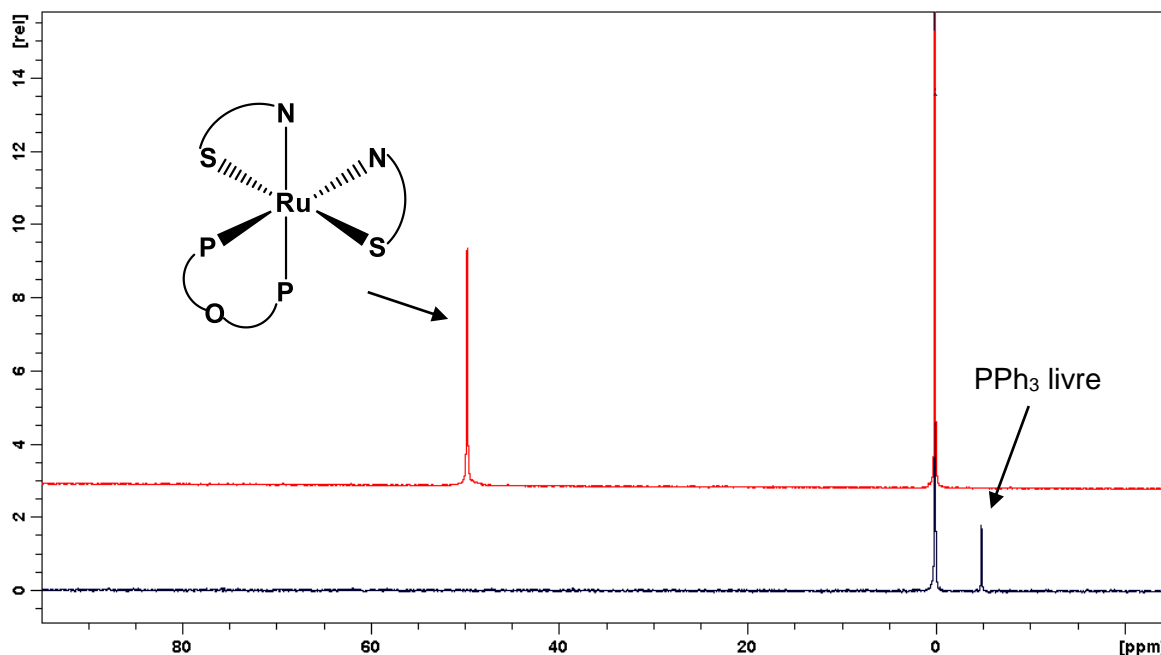


Figura 45 – Espectro do complexo $[Ru(mctz)_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$ (em vermelho) e do ligante livre PPh_3 .

A **Figura 47** apresenta o espectro RMN de 1H para o complexo $[Ru(mcbtz)_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$, onde é possível observar a coordenação do ligante mcbtz na forma aniônica, devido à ausência do hidrogênio ácido N-H na região entre 10-12 ppm⁷⁰. Verifica-se que os hidrogênios aromáticos (multipletos e dupletos) presentes nas faixas de 6,8 a 7,8 ppm, são hidrogênios das trifenilfosfinas e dos anéis benzênicos da mcbtz. A integração dos sinais em aproximadamente 38 hidrogênios aromáticos corrobora com a presença de um ligante DPEphos coordenado bidentado e dois ligantes mcbtz coordenados, compatível com a formulação proposta.

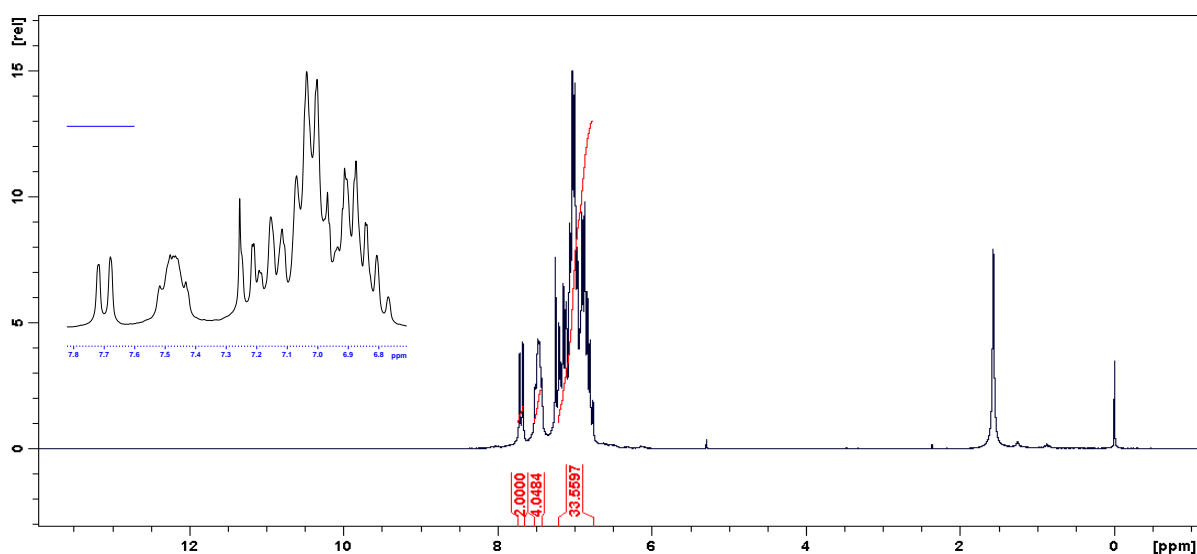


Figura 46 - Espectro de RMN de 1H para o complexo $[Ru(mcbtz)_2(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$.

Para essa série pode-se sugerir três isômeros, semelhantes aos da série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{dppb})]$. Os isômeros que possuem os átomos de fósforo mutuamente em posição *trans*, conforme a literatura, possuem deslocamentos químicos menores, próximos a 20 ppm ⁷⁶, assim pode-se descartar os mesmos, pois os deslocamentos químicos para os complexos resultaram na faixa de 49-50 ppm. Sendo que o isômero indicado é o que possui as fosfinas mutuamente em posição *cis* e em posição *trans* aos nitrogênios.

4.6. COMPLEXOS DA SÉRIE $[\text{RuCl}(\text{N-S})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$

Os complexos dessa série foram obtidos por meio de duas rotas sintéticas diferentes (uma para cada ligante) apresentadas na **Figura 48**. A caracterização dos complexos é discutida abaixo.

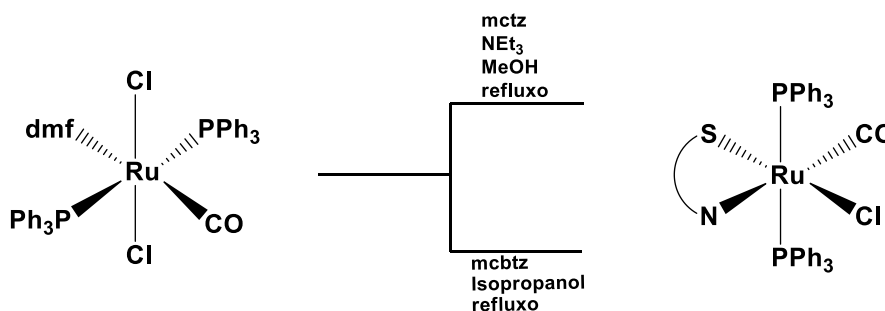


Figura 47 – Rota utilizada para a síntese dos complexos $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{N-S})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$.

4.6.1. Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho

Os complexos desta série $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{N-S})(\text{PPh}_3)_2]$ foram testados em pastilhas de KBr e também em uma janela com solução de DCM.

O grupamento CO possui uma banda característica no espectro vibracional que, para o CO livre, tem estiramento C-O muito forte em 2143 cm^{-1} . Em complexos metálicos, o CO coordenado de forma terminal (Ru-CO) o estiramento pode chegar a 1900 cm^{-1} ⁷⁷.

Para as análises em sólido (KBr), os complexos apresentaram estiramentos de ν_{CO} em 1922 cm^{-1} para o $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e ν_{CO} em 1913 cm^{-1} para $[\text{RuCl}(\text{mcbtz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$. Estes valores não estão de acordo com o esperado, em função da variação de acidez dos ligantes.

Para verificar as interações curtas de CO no sólido, analisaram-se os compostos em solução para comparar com os deslocamentos químicos obtidos no RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, já que as interações no sólido não resultaram em valores esperados.

O complexo $[\text{RuCl}(\text{mcbtz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ apresentou estiramento característico de ν_{CO} em 1930 cm^{-1} e para o complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ ν_{CO} em 1940 cm^{-1} , (em solução de CH_2Cl_2) (**Figura 49**).

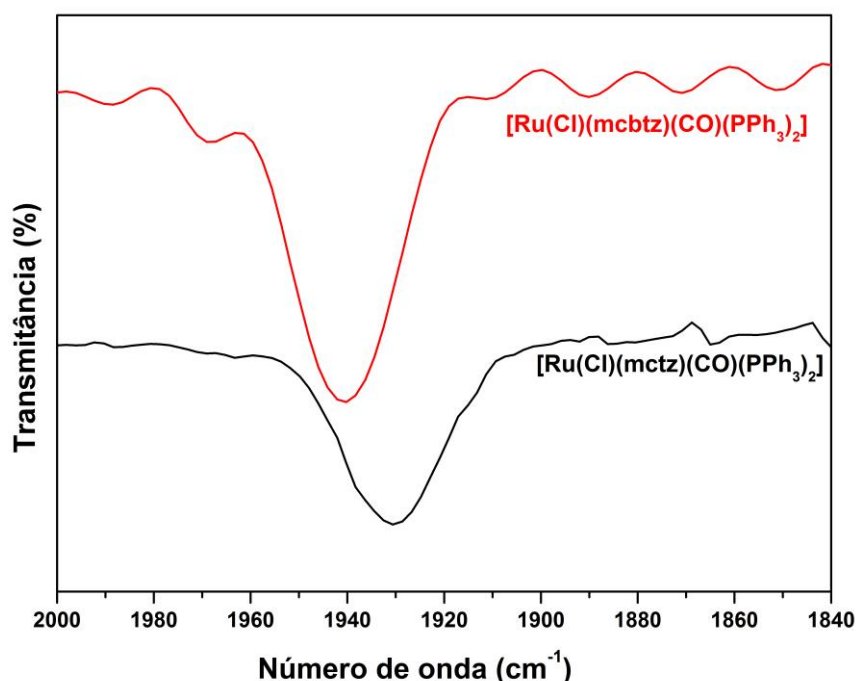


Figura 48 - Espectros vibracional na região do infravermelho dos complexos $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{RuCl}(\text{mcbtz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ em solução (CH_2Cl_2).

Através dos valores dos espectros vibracionais na região do infravermelho, observa-se a coordenação do átomo de monóxido de carbono aos compostos $[\text{RuCl}(\text{mcbtz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$. Os resultados encontrados estão de acordo com o esperado. Em um trabalho reportado no nosso grupo utilizando ligantes *ampy* (2-aminometilpiridina) e *en* (1,2-etilediamina), em que o átomo de nitrogênio está em posição *trans* ao CO é observado valores similares (1934 e 1944 cm^{-1})⁵⁵. Assim, propõe-se que o átomo de monóxido de carbono esteja *trans* ao átomo de nitrogênio nos complexos estudados.

A análise do efeito dos ligantes N-S (mctz e mcbtz) mostrou uma correlação com a acidez dos ligantes ($\text{mctz} < \text{mcbtz}$) e com os valores de energia encontrados para o grupo carbonilo. O ligante mctz por ter caráter mais básico doa mais densidade

eletrônica e assim intensifica a retroligação $\text{Ru} \rightarrow \text{CO}$, conseqüentemente, diminui a ordem de ligação e o estiramento do monóxido de carbono. Dessa forma, devido o ligante mcbtz ser mais ácido mostra-se em concordância com o valor de estiramento maior para CO, devido à força de ligação ser maior.

4.6.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^1H

Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos desta série apresentaram simpletos com deslocamento químico em δ 36 ppm para $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e δ 38,2 ppm $[\text{RuCl}(\text{mcbtz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$, respectivamente. Os simpletos são referentes à presença de dois núcleos de fósforo em ambientes químicos equivalentes. A **Figura 50** apresenta o espectro e a estrutura proposta para o complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$.

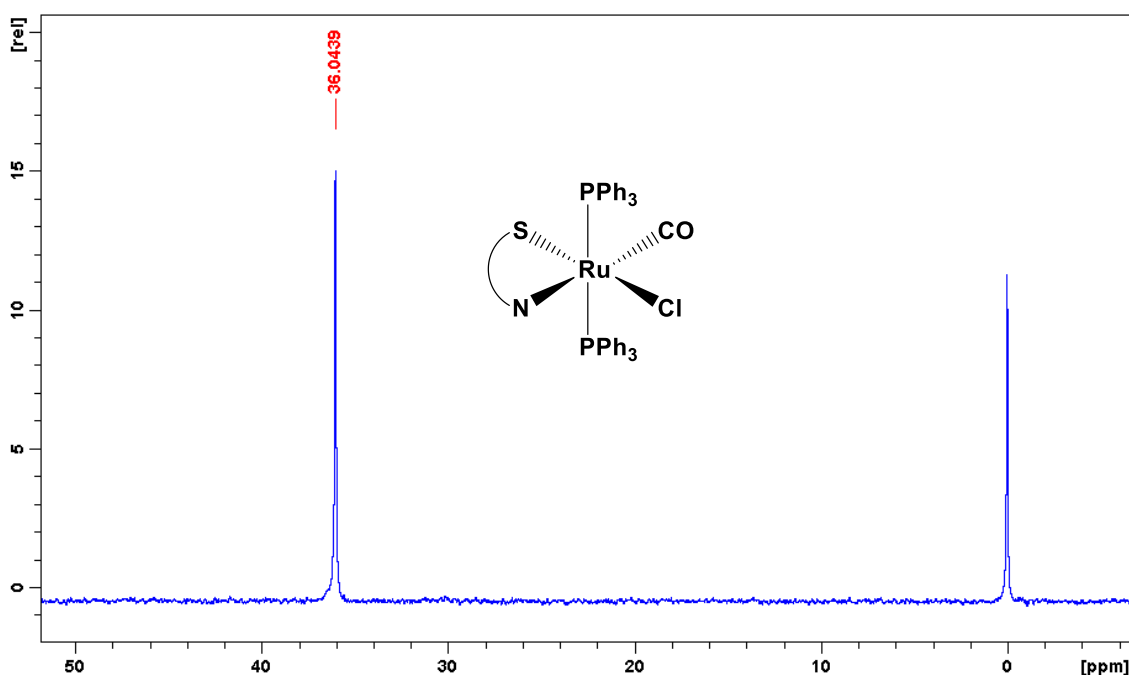


Figura 49- Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$.

Adams e colaboradores reportaram em um trabalho com ligante 4-mercaptopropionato ditiol com o íon metálico Molibdênio o deslocamento químico de átomos de trifenilfosfinas em *trans* uma em relação a outra em 43,2 ppm⁷⁸. Em outro trabalho encontrado na literatura observa-se que átomos de fósforo em *trans* possuem deslocamentos químicos menores de 40 ppm. Esses valores estão em concordância aos valores encontrados neste trabalho.

Na **Figura 51** está apresentado os espectros de RMN de ^1H (sobrepostos) dos complexos $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{RuCl}(\text{mcbtz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$, pode-se observar a possível coordenação dos ligantes ao rutênio na forma aniônica. Os dados de RMN de ^1H para este complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ mostram um multipeto na faixa de 2,0 - 2,2 ppm na região de hidrogênios metilênicos, assim como os hidrogênios aromáticos, multipletos na faixa de 7,2 a 8 ppm, presentes nas trifenilfosfinas. A integração dos sinais em 30 hidrogênios aromáticos e 4 hidrogênios metilênicos corroboram com dois ligantes PPh_3 e um ligante mctz coordenado ao rutênio. Para o complexo $[\text{RuCl}(\text{mcbtz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ a integração dos sinais em 34 hidrogênios aromáticos da PPh_3 e do anel benzênico entram em concordância com a formulação sugerida.

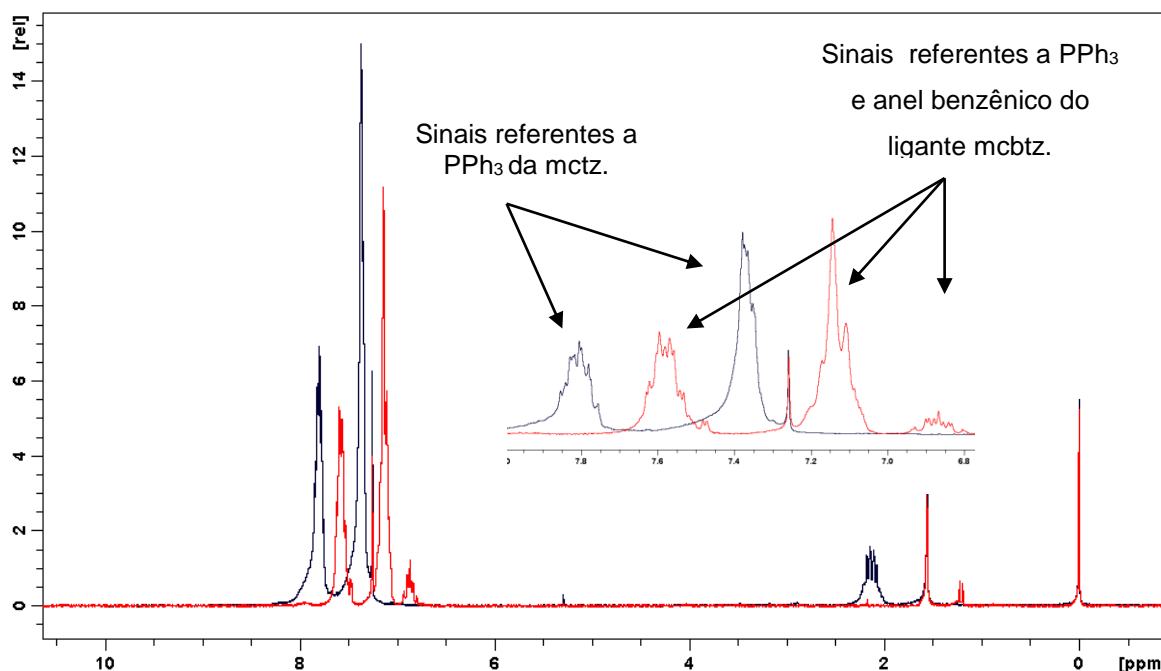


Figura 50 - Espectros de RMN de ^1H dos complexos $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ (em azul) e $[\text{RuCl}(\text{mcbtz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ (em vermelho).

4.7. VOLTAMETRIA CÍCLICA

Os complexos sintetizados neste trabalho foram estudados por voltametria cíclica, com objetivo de se verificar a influência dos diferentes ligantes nos potenciais de oxidação do rutênio.

Os voltamogramas foram realizados em seis velocidades de varredura: 25, 50, 75, 100, 125 e 150 mV.s^{-1} . As análises foram realizadas em uma solução de diclorometano com PTBA ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) como eletrólito para a manutenção da força

iônica. O conjunto de três eletrodos: trabalho e contra-eletrodo de platina e eletrodo referência de Ag/AgCl. Nestas condições, também foi realizado a voltametria do ferroceno, obtendo o $E_{1/2}$ do par redox Fc^+/Fc igual a 0,52 V.

Todos os complexos apresentaram um processo reversível e monoeletrônico, atribuído ao par redox Ru^{III}/Ru^{II} . Esta conclusão foi baseada na análise dos voltamogramas cíclicos.

Os valores de área dos processos estão compatíveis com os do ferroceno, para voltamogramas obtidos com soluções de mesma concentração, indicando que o processo envolve apenas um elétron por rutênio. Além disso, outros parâmetros, extraídos dos voltamogramas cíclicos, são compatíveis com o caráter reversível do processo (**Tabela 10**).

No geral, para os complexos contendo ligantes N-S e fosfinas ($[Ru(N-S)_2P_2]$; P_2 = bifosfina), os valores de $E_{1/2}$ mostram uma correlação entre os valores de $E_{1/2}$, a fosfina e o pKa dos ligantes N-S. Por outro lado, os complexos contendo monóxido de carbono, não apresentaram, entre si, variação nos valores de $E_{1/2}$ em função do ligante N-S.

Na **Tabela 10** são apresentados os dados da análise de voltametria cíclica para a velocidade de varredura de 25 mV.s⁻¹.

Tabela 10- Dados para as voltametrias cíclica dos complexos, obtidos a partir dos voltamogramas medidos com velocidade de varredura de 25 mV.s⁻¹.

Complexo	E_{pa} (V)	E_{pc} (V)	$E_{1/2}$ (V)	$ I_{pa}/I_{pc} $	R^2
$[Ru(mctz)_2(PPh_3)_2]$	0,59	0,49	0,55	1,02	0,9970
$[Ru(mcbtz)_2(PPh_3)_2]$	0,68	0,59	0,63	1,07	0,9951
$[Ru(mctz)_2(dppb)]$	0,64	0,53	0,58	1,09	0,9978
$[Ru(mcbtz)_2(dppb)]$	0,72	0,61	0,66	1,05	0,9904
$[Ru(mctz)(\kappa^2-P,P-DPEphos)]$	0,59	0,49	0,54	1,02	0,9988
$[Ru(mcbtz)(\kappa^2-P,P-DPEphos)]$	0,63	0,53	0,57	1,00	0,9989
$[RuCl(CO)(mctz)(PPh_3)_2]$	1,10	1,01	1,05	1,13	0,9944
$[RuCl(CO)(mcbtz)(PPh_3)_2]$	1,10	1,00	1,05	1,14	0,9997

Para a série $[Ru(N-S)_2(PPh_3)_2]$ observa-se uma tendência na diminuição do $E_{1/2}$ com o aumento do pKa do ligante ($mcbtz < mctz$). O complexo $[Ru(mcbtz)_2(PPh_3)_2]$, apresenta potencial de meia onda maior do que o do complexo $[Ru(mctz)_2(PPh_3)_2]$, em função do menor pKa do ligante mcbtz comparado ao mctz. O ligante menos ácido transfere mais densidade eletrônica para o metal, assim, quanto maior a densidade

transferida, menor é o potencial, devido à facilidade de retirar elétrons de um centro metálico com uma maior densidade eletrônica.

Para os complexos da série $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{N-S})(\text{PPh}_3)_2]$ os potenciais de meia onda são maiores do que os da série $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{P-P})]$, isso é decorrente da presença do ligante de caráter π -retirador CO, devido ao efeito da retroligação do $\text{Ru} \rightarrow \text{CO}$, que diminui a densidade eletrônica do centro metálico.

Nas **Figuras 52 e 53** são apresentados os voltamogramas dos complexos $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ nas diferentes velocidades de varredura e com apenas um processo redox atribuído ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$.

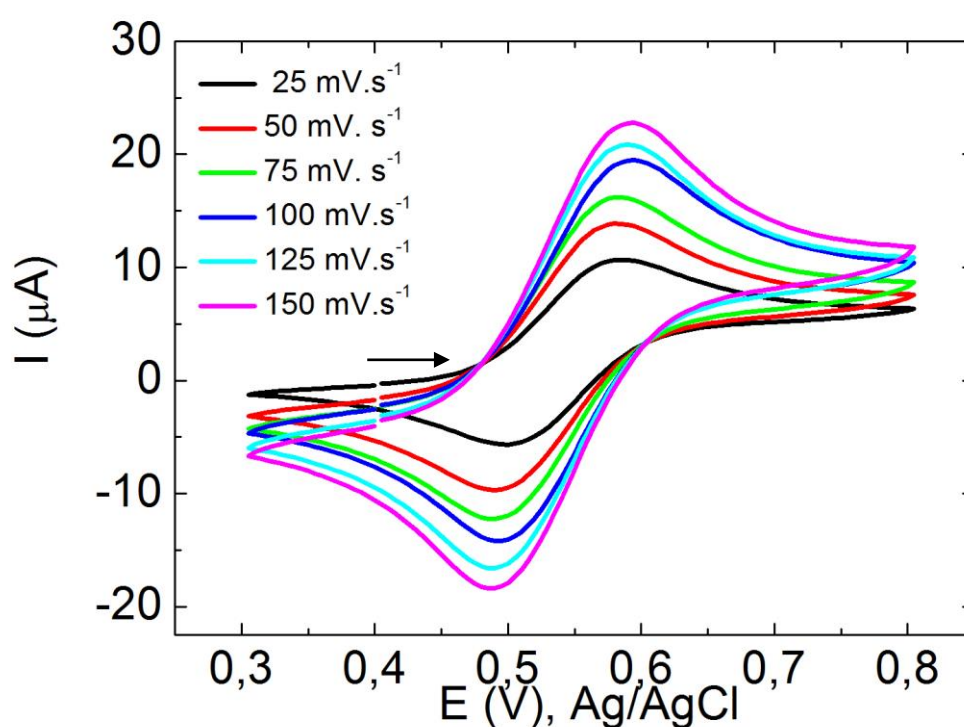


Figura 51 – Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})(\text{PPh}_3)_2]$.

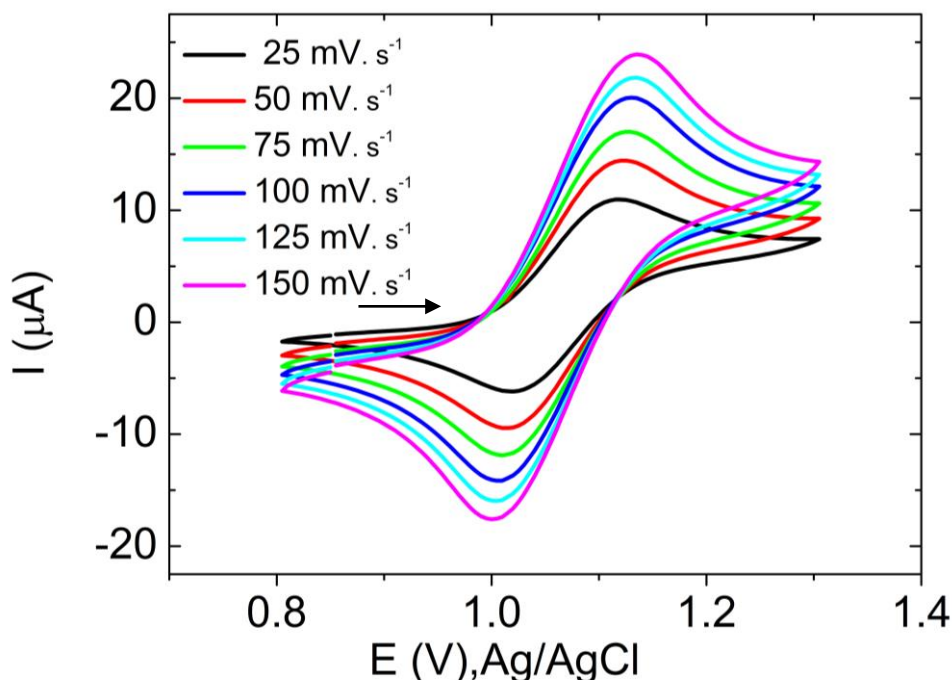


Figura 52 - Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$.

4.8. REATIVIDADES COM MONÓXIDO DE CARBONO (CO)

Os compostos $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}((\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2)]$, foram avaliados quando às suas reatividades com monóxido de carbono. Todos os compostos foram reativos, porém só foi possível isolar o complexo com provável fórmula $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)]$.

4.8.1. $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$

O complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)]$ apresentou reatividade com CO. A reação foi acompanhada por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e observou-se que ocorreu a saída da trifenilfosfina durante a reação, com isso fez-se a atribuição da formação do complexo com a fórmula $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)]$, conforme a **Figura 54**.

O espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)]$ apresentou um simpleto com $\delta = 39,1$ ppm. Observa-se que ocorre uma diminuição no deslocamento químico do precursor para o possível produto formado, isso de fato está em concordância com a coordenação do CO.

Através da espectroscopia vibracional na região do infravermelho confirmou-se a presença do monóxido de carbono coordenado, com estiramento ν_{CO} em 1950 cm^{-1}

(Figura 55). Este valor está compatível com a literatura, no qual o CO está em posição *trans* a nitrogênio. Assim, especula-se que não houve rearranjo dos ligantes na esfera de coordenação com a entrada do CO. A Figura 55 apresenta a sobreposição dos espectros de infravermelho do precursor com o complexo carbonílico formado.

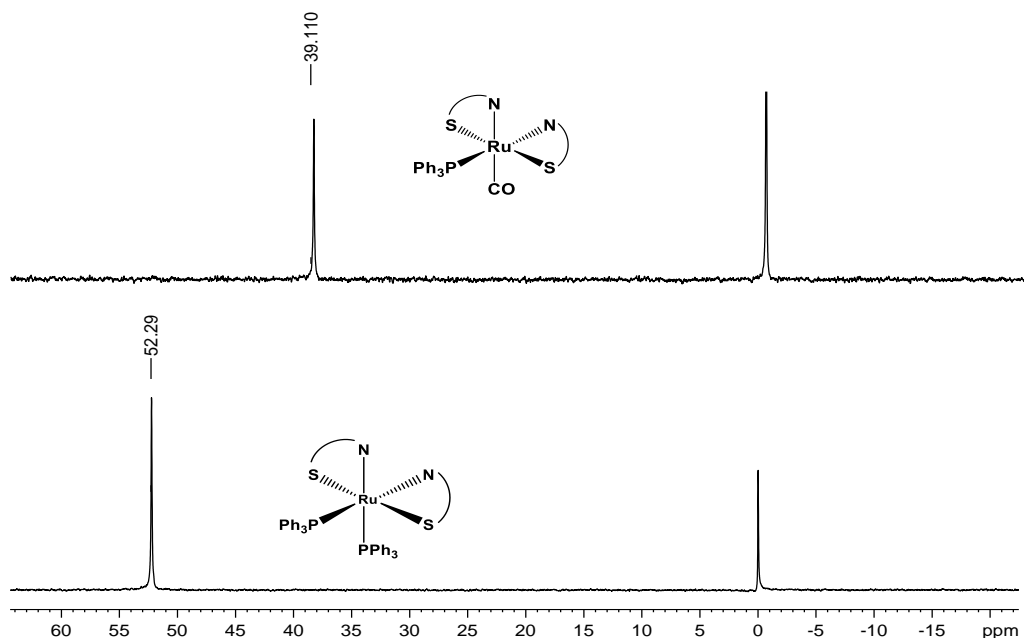


Figura 53 - Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do precursor e do produto $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)]$.

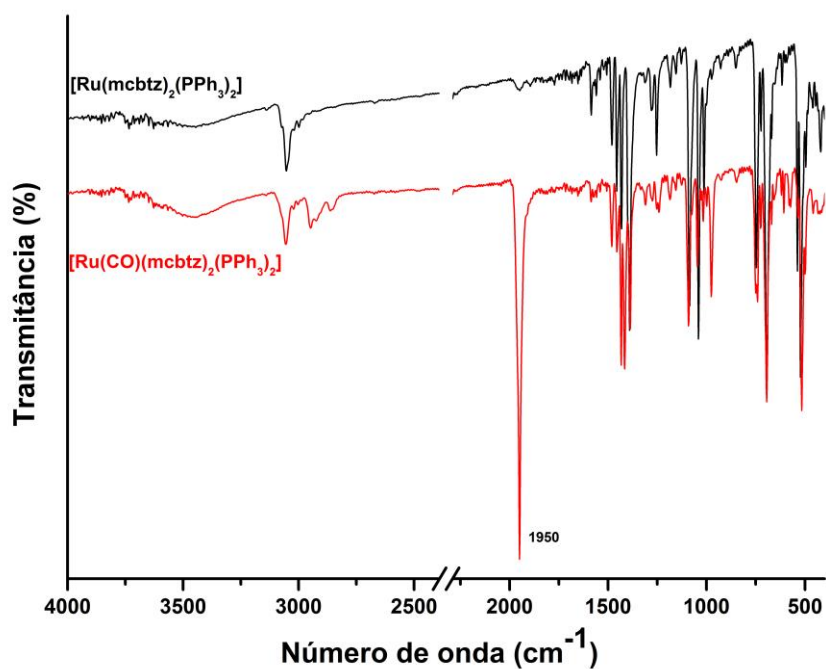


Figura 54 - Espectro vibracional na região do infravermelho, sobreposição dos complexos $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)]$.

4.8.2. Complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$

O complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ apresentou reatividade com CO e observou-se a formação de misturas (**Figura 56**). A reação foi acompanhada por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e observou-se que houve a liberação da trifenilfosfina durante a reação.

Nas misturas observa-se um composto com deslocamento químico muito similar $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)]$ apresentado anteriormente. Assim, sugere-se que o complexo formado que apresentou um simpleto (característica de um ou mais átomos de fósforos equivalentes) com deslocamento químico em 38,2 ppm, apresente uma estrutura similar ao complexo relatado no item 4.8.1, ou seja, ocorreu a saída de uma trifenilfosfina (como é observado no espectro $\delta = -5,6$ ppm) e entrada do monóxido de carbono. Assim, propõe-se a atribuição da fórmula $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)]$.

Através da espectroscopia vibracional na região do infravermelho confirmou-se a presença do monóxido de carbono, com estiramento $\nu_{(\text{CO})}$ em 1923 cm^{-1} . O outro produto em 58,53 ppm pode ser outro isômero formado. No entanto, o espectro vibracional apresenta somente uma banda de estiramento C-O.

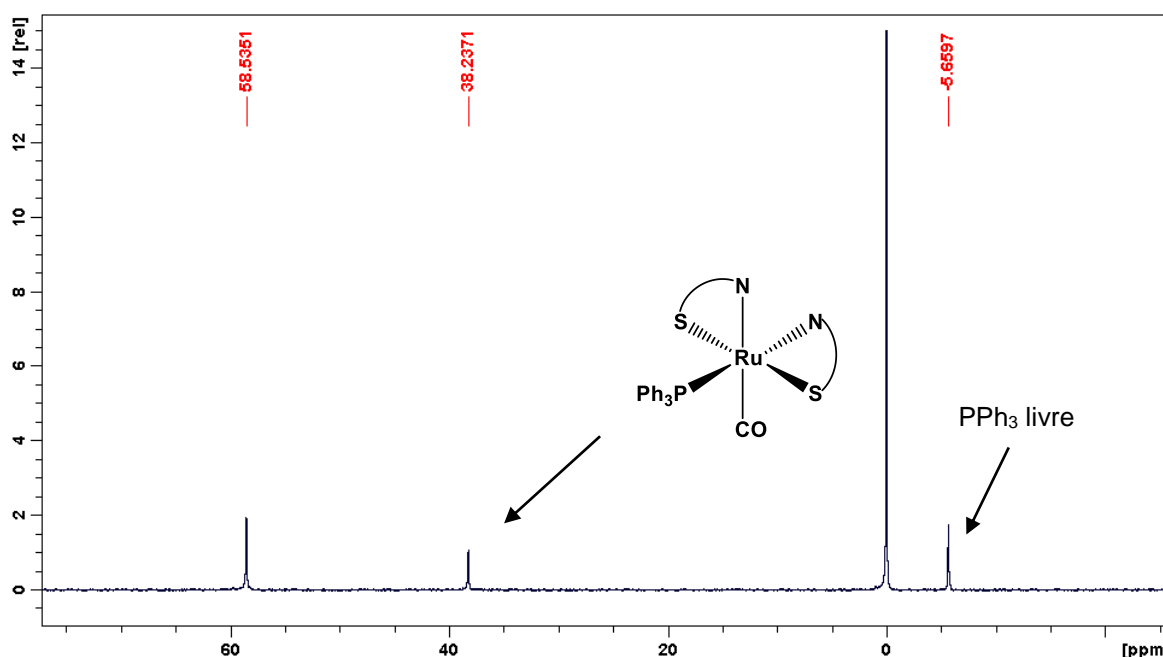


Figura 55- Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do produto da reação $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)]$ com CO.

4.9. REATIVIDADES COM DIMETILSUFÓXIDO (DMSO)

Os compostos $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{PPh}_3)_2]$, $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mctz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$, $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mc}btz)_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$, foram testados quanto às suas reatividades frente ao dimetilsufóxido. Apenas dois compostos mostraram ter atividade, porém até o momento não foi possível isolar os compostos. Para testar a reatividade foi utilizado tubos de ressonância de 5mm com adição de uma solução dos compostos em DMSO, os mesmos foram monitorados por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ por seis dias.

4.9.1. $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mctz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mc}btz)_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$

Para estes compostos não se verificou mudanças nos espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, mesmo após seis dias de reação. Assim, pode-se confirmar que os mesmos não apresentam reatividade frente ao DMSO.

4.9.2. $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$

Para estes dois complexos observa-se a reatividade frente à DMSO. Para o complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (**Figura 58**), observa-se que o simpleto em $\delta = 53,8$ ppm é referente ao precursor, após 24 horas de reação em dmsO, foi possível verificar o aparecimento de outro sinal na RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ em $\delta = 57$ ppm. Em 72 horas é observado nitidamente o sinal característico de fosfina livre em $\delta = -5$ ppm, demonstrando a saída de um ligante trifenilfosfínico. A partir de 144 horas o produto majoritário é o composto em $\delta = 57$ ppm, também observa-se que em $\delta = 61$ ppm, tem o aparecimento de outro produto que possivelmente pode ser um isômero.

Para o complexo $[\text{Ru}(\text{mc}btz)_2(\text{PPh}_3)_2]$ (**Figura 57**), observa-se que o composto começou a demonstrar reatividade em DMSO após 24 horas de reação, tendo o aparecimento de um simpleto em $\delta = 56,4$ ppm. Após 144 horas de reação, o precursor manteve-se como majoritário ($\delta = 52$ ppm). Porém, também é observado um sinal em $\delta = 26,5$ ppm, próximo ao sinal de fosfina oxidada ($\delta = 27$ ppm) e o sinal característico de fosfina livre em $\delta = -5$ ppm. Com os dados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ é possível propor que a reatividade com DMSO envolve a saída de pelo menos um ligante PPh_3 , para formação das espécies que estão sendo observadas. Assim, um possível produto, possui a fórmula $[\text{Ru}(\text{N-S})_2(\text{DMSO})(\text{PPh}_3)]$.

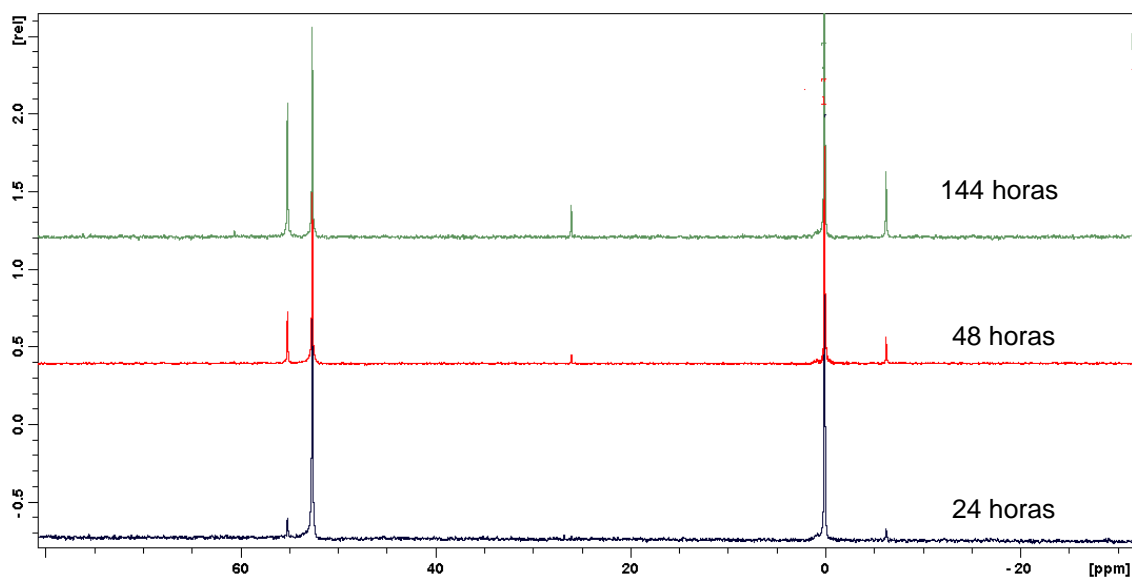


Figura 56 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o teste de reatividade do complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ em DMSO.

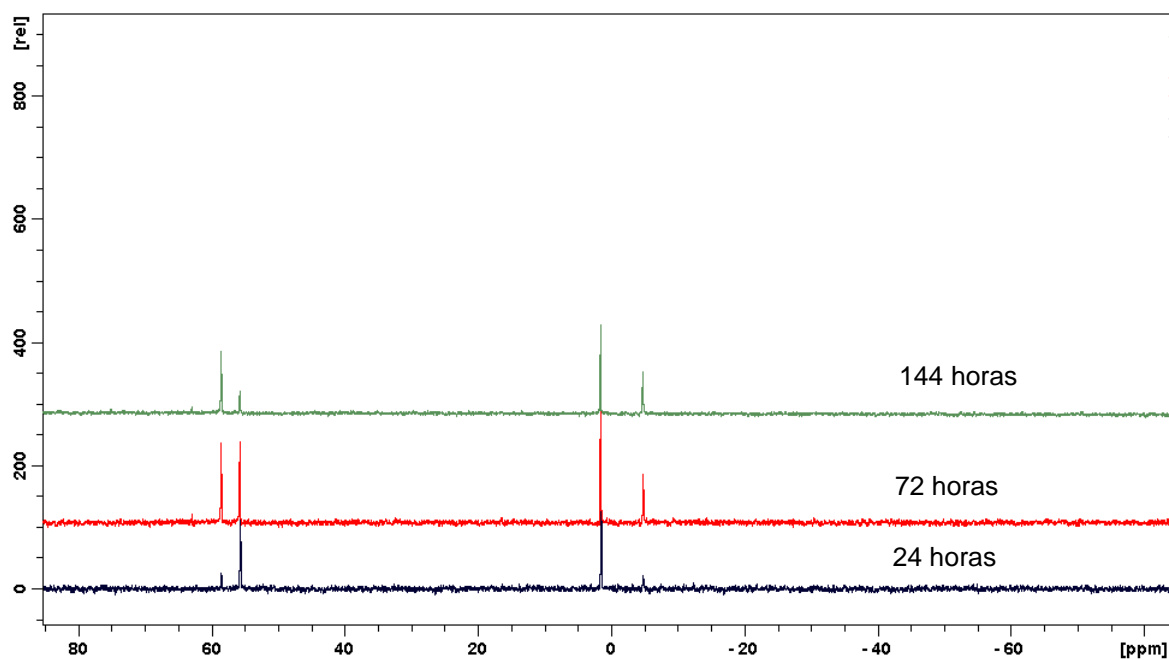


Figura 57 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o teste de reatividade do complexo $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ em DMSO.

4.10. ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO*

Neste trabalho foram realizados ensaios preliminares para avaliação citotóxica de alguns complexos sintetizados contendo ligantes N-S: $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$,

$[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, bem como os ligantes livres, mctz e mcbtz. Também foi utilizado os controles com DMSO 1%, DMSO 20% (como controle negativo) e RuCl_3 , contra linhagens de células de câncer de mama (MCF-7), linhagens de células câncer cervical (HeLa) e linhagens de células de pulmão (A458). A estrutura dos complexos estudados está representada na **Figura 60**.

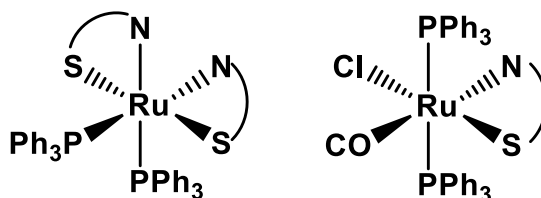


Figura 58 - Complexos estudados nos testes de citotoxicidade in vitro.

A **Tabela 11** apresenta os resultados obtidos em função do IC_{50} (concentração mínima necessária de uma droga para a inibição de 50 % do crescimento celular) para linhagens de HeLa e MCF-7. Para a linhagem A458 não foi obtido o IC_{50} , pois os compostos não foram testados em concentrações variadas.

Tabela 11 - Resultados de IC_{50} ($\mu\text{Mol.L}^{-1}$) dos compostos contra as linhagens HeLa e MCF-7.

Amostras	IC_{50} (HeLa)	IC_{50} (MCF-7)
$[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$	174,71	> 200
$[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$	> 200	> 200
$[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mctz})(\text{PPh}_3)_2]$	> 200	> 200
mctz	> 200	> 200
mcbtz	> 200	> 200
Cisplatina	*15.52	**2.0

*79 / ** 80

Os resultados preliminares para a linhagem de células HeLa estabelecem a ordem decrescente para os valores de IC_{50} dos complexos estudados, $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2] = [\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mctz})(\text{PPh}_3)_2] < [\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$. Os ligantes obtiveram o mesmo resultado > 200 $\mu\text{Mol.L}^{-1}$. Os dados da atividade *in vitro* dos complexos foi comparado com o valor da cisplatina (composto comumente usado no tratamento quimioterápico) e observou-se a baixa atividade dos complexos testados. Para a linhagem MCF-7, não foi observado distinção dos resultados, pois todos os complexos resultaram em valores de IC_{50} maiores do que 200 $\mu\text{Mol.L}^{-1}$.

Nazarov e colaboradores estudaram complexos de rutênio-areno contra células MCF-7 nas mesmas condições deste trabalho e apresentaram valores de $IC_{50} = > 200 \mu\text{Mol.L}^{-1}$, similares aos deste trabalho ^{22e}.

O complexo $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{CH}_2\text{S}(\text{O})_2\text{Ph-}\kappa\text{P})]$ reportado por Ludwig e colaboradores (2012), foi testado contra células MCF-7, no tempo de incubação de 96 h e apresentou valor de $IC_{50} = 115,00 \mu\text{Mol.L}^{-1}$ ⁸⁰. Este resultado foi obtido em tempo de incubação superior ao estudado neste trabalho, assim, sugere-se que com o aumento de incubação os nossos compostos podem apresentar melhores resultados.

Kamatchi e colaboradores sintetizaram complexos de rutênio contendo CO e bipyridina: $[\text{RuHCl}(\text{bpy})(\text{PPh}_3)(\text{CO})]$ e $[\text{RuHCl}(\text{bpy})(\text{AsPh}_3)(\text{CO})]$. Esses complexos foram estudados contra a linhagem celular HeLa, em tempos de incubação de 48 horas. Os resultados apresentaram valores de $IC_{50} = 48,8$ e $59,3 \mu\text{Mol.L}^{-1}$, respectivamente ¹⁵. Mesmo em tempos de incubações diferentes, pode-se confrontar esses dados com os dados obtidos neste trabalho, pois no período de 24 h não foi obtido resultados tão positivos quanto os da literatura, porém é possível que num período de incubação maior estes complexos alcancem os resultados obtidos por Kamatchi.

Nas **Figuras 60, 61 e 62** são apresentados os gráficos de barras da porcentagem da viabilidade de células vivas em concentrações de 50 e 100 $\mu\text{Mol.L}^{-1}$ dos compostos.

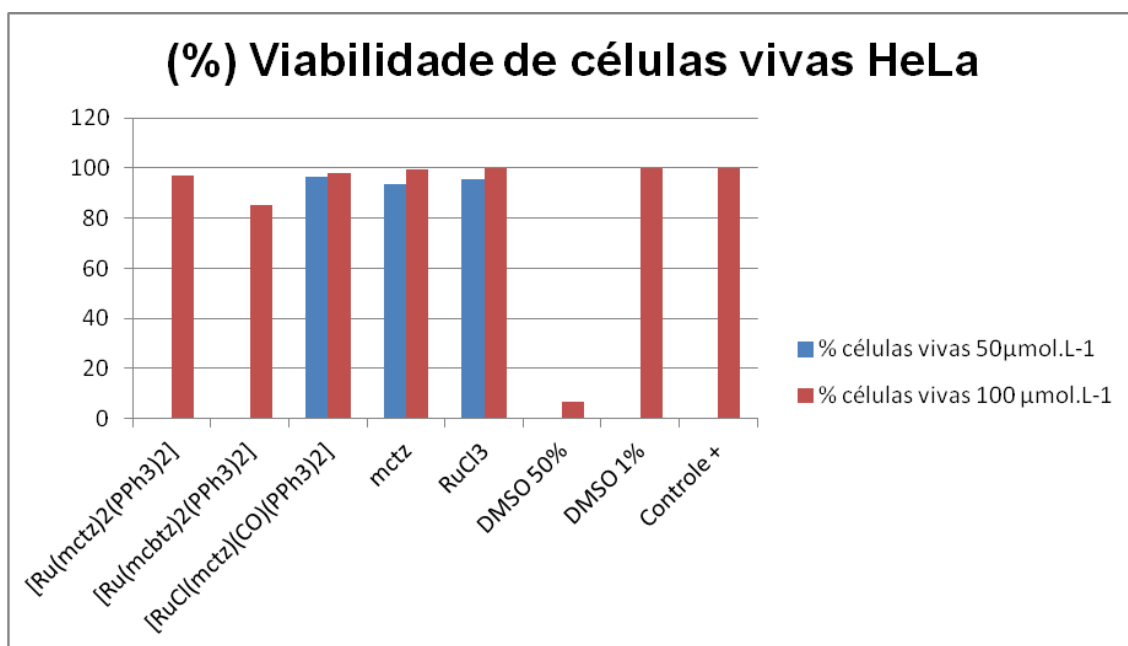


Figura 59 - Gráfico da porcentagem de viabilidade de células HeLa vivas.

Os resultados preliminares para a linhagem de células HeLa (**Figura 60**) mostraram que para concentração de $50 \mu\text{mol.L}^{-1}$ o complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ apresentou baixa atividade e com os demais complexos não foi realizado o ensaio para essa concentração. Para a concentração de $100 \mu\text{Mol.L}^{-1}$ observa-se a ordem decrescente de células vivas nos complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2] > [\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2] > [\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$. O complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ mostrou-se o mais ativo, inibindo (na concentração de $100 \mu\text{Mol.L}^{-1}$) em aproximadamente 15% o crescimento de células vivas.

Os resultados preliminares para a linhagem de células MCF-7 (**Figura 62**) estabelecem que o complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ na concentração de $50 \mu\text{Mol.L}^{-1}$, inibiu 18% do crescimento de células vivas, sendo mais específico para esse tipo de célula quando comparado com a linhagem anterior.

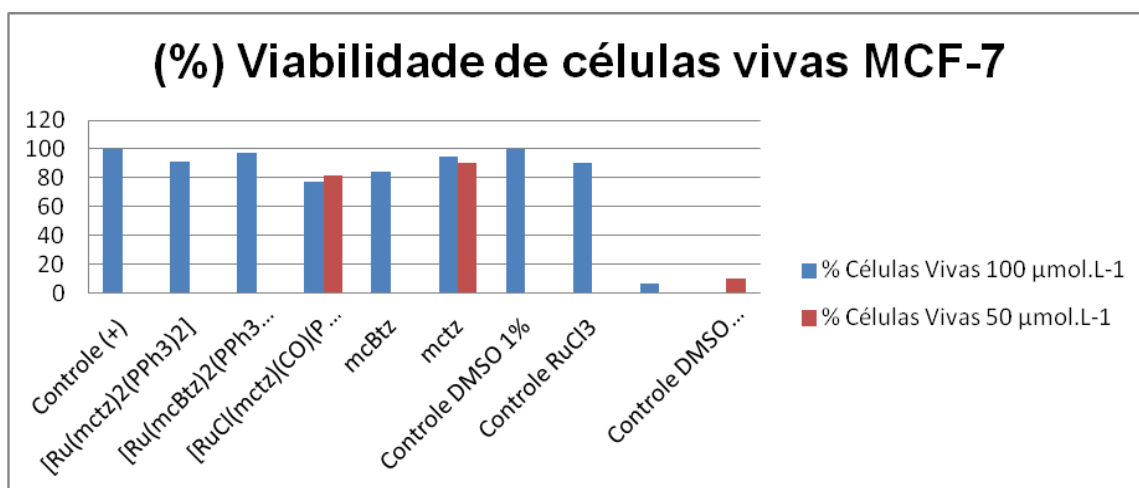


Figura 60 - Gráfico da porcentagem de viabilidade de células MCF-7 vivas.

Para a concentração de $100 \mu\text{Mol.L}^{-1}$, observa-se a ordem decrescente de células vivas nos complexos $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2] > [\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2] > [\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$. O complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ mostrou-se inibir 25% do crescimento de células vivas MCF-7, confirmando que este composto é específico para essa linhagem celular, pois foi o qual apresentou melhor resultado nessas duas concentrações.

Cabe ressaltar que os ligantes e o RuCl_3 também apresentaram inibição no crescimento celular. De modo geral, isso é importante, pois ainda não é possível afirmar que a atividade de inibição celular é causada pelos complexos apresentados, ou pelos ligantes ou tricloreto de rutênio. Assim, com estudos futuros acredita-se que seja possível determinar a forma de atuação desses compostos testados.

Além disso, observa-se que os testes com DMSO foram promissores, pois pode-se descartar a possibilidade de que o solvente seja um agente inibidor no crescimento celular, já que a concentração final de DMSO no meio de cultura é 1%, e não mostrou atividade.

Os resultados preliminares para a linhagem de células A-458 (**Figura 62**) demonstraram que o complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$, nessa concentração inibiu 16%, respectivamente na concentração de $50 \mu\text{Mol.L}^{-1}$.

Para a concentração de $100 \mu\text{Mol.L}^{-1}$ observa-se que a concentração influencia no crescimento celular, pois quanto mais concentrado maior é a inibição do crescimento das células. Para essa linhagem só foi testado um complexo conforme reportado na **Figura 62**. Em $100 \mu\text{Mol.L}^{-1}$ o complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ apresentou inibição de 30% do crescimento dessas células. Esses resultados são bastante promissores e os testes estão em andamento.

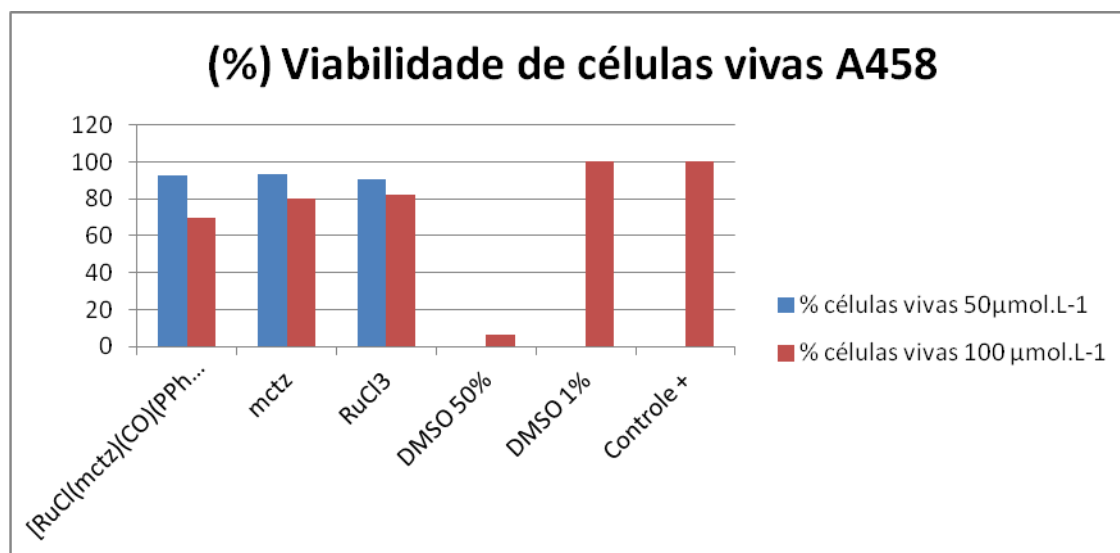


Figura 61 – Gráfico da porcentagem de viabilidade de células A458 vivas.

O complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ pode ser considerado específico para as células MCF-7 e A458.

4.11. ENSAIOS PRELIMINARES ANTIBACTERIANOS

Todos os compostos desse trabalho exceto $[\text{Ru}(\text{mctz})(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$ foram submetidos à avaliação da atividade antibacteriana, bem como os ligantes livres mctz, mcbtz e o solvente DMSO. As bactérias testadas foram *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*. A gentamicina a qual é um antibiótico foi utilizado contra essas cepas de bactérias e como controle positivo.

As concentrações usadas para todos os compostos foram de 0,5 e 2,0%. O método empregado foi o disco-difusão. A atividade dos compostos foi medida em milímetros de acordo com a resposta dos halos de inibição nos antibiogramas. Foram testados dois métodos para avaliar a eficácia, em um deles deixou-se o solvente (DMSO) ter mais contato com o filtro quando o mesmo foi mergulhado na solução do complexo (metodologia 1) e o outro adicionou-se o filtro na placa após a adição do solvente, e este só foi testado a concentração de 0,5% (metodologia 2).

Nas **Tabelas 12 e 13** estão apresentados os resultados do halo de inibição (mm) dos compostos estudados para as bactérias *E. coli* e *B. subtilis* nas metodologias 1 e 2.

Tabela 12 – Resultados da atividade antibacteriana (mm) dos complexos (metodologia 1).

Complexos	Halo de Inibição (mm)			
	E. Coli		B. Subtilis	
	0,5%	2,0%	0,5%	2,0%
[Ru(mctz) ₂ (PPh ₃) ₂]	*----	0,5	1,0	2,0
[Ru(mcbtz) ₂ (PPh ₃) ₂]	----	----	----	1,5
[Ru(mctz) ₂ (dppb)]	----	----	2,0	3,0
[Ru(mcbtz) ₂ (dppb)]	2,0	3,3	1,0	1,0
[RuCl(CO)(mctz)(PPh ₃) ₂]	----	----	----	----
[RuCl(CO)(mcbtz)(PPh ₃) ₂]	----	----	----	----
[Ru(mcbtz)(κ ² -P,P-DPEphos)]	----	----	----	----
Mctz	----	----	2,0	1,3
Mcbtz	0,66	0,6	3,3	2,0
Gentamicina	16	16	18	18
DMSO (P.A)	----	----	----	----

*---- sem halo.

Tabela 13 - Resultados da atividade antibacteriana (mm) dos complexos (metodologia 2).

Complexos	Halo de Inibição (mm)	
	E. Coli	B. Subtilis
	0,5%	0,5 %
[Ru(mctz) ₂ (PPh ₃) ₂]	2,0	3,0
[Ru(mcbtz) ₂ (PPh ₃) ₂]	1,0	----
[Ru(mctz) ₂ (dppb)]	1,0	2,0
[Ru(mcbtz) ₂ (dppb)]	3,0	3,0
[RuCl(CO)(mctz)(PPh ₃) ₂]	3,0	3,0
[RuCl(CO)(mcbtz)(PPh ₃) ₂]	2,0	1,0
[Ru(mcbtz)(κ^2 -P,P-DPEphos)]	1,0	2,0
Mctz	----	0,5
Mcbtz	2,5	5,0
Gentamicina	6,0	15
DMSO (P.A)	----	----

*---- sem halo.

Comparando as metodologias utilizadas, observa-se que a metodologia 2 mostrou-se mais eficiente para esse tipo de cepas de bactérias. Sendo que o solvente DMSO não apresentou atividade inibitória frente às bactérias, assim, não interferindo nos resultados.

A partir da **Tabela 12**, pode-se observar que quando foi aumentada a concentração dos complexos de 0,5% para 2,0% a atividade inibitória para *B.subtilis* também foi aumentada, exceto o [Ru(mcbtz)₂(dppb)] que manteve-se igual. Os compostos que demonstraram possuir melhor atividade contra esse tipo de cepas para a concentração de 2,0% em ordem crescente de halo de inibição foram, [Ru(mcbtz)₂(dppb)], mctz, [Ru(mcbtz)₂(PPh₃)₂], mcbtz, [Ru(mctz)₂(PPh₃)₂] e [Ru(mctz)₂(dppb)]. Para as cepas de *E.coli* o único complexo que apresentou atividade foi o [Ru(mcbtz)₂(dppb)] e o ligante mcbtz, os quais apresentaram halo de inibição de 0,66 mm para o ligante e 3,3 mm para o complexo (na concentração de 2,0%). Confrontando os dois resultados, pode-se preliminarmente sugerir que o ligante livre possui atividade, porém quando coordenado ao centro metálico e juntamente com o ligante bifosfínico possui atividade mais elevada.

Através da **Tabela 13**, verifica-se que o ligante mctz apresenta atividade muito baixa para *B.subtilis*, enquanto que o ligante mcbtz apresenta maior atividade dentre todos os compostos estudados. Para as cepas de *E.coli* os complexos

$[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mctz})(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ apresentaram os melhores resultados com um halo de inibição de 3 mm, e esse valor manteve-se para *B. subtilis*. Para *E. coli* os compostos que demonstraram possuir melhor atividade contra esse tipo de cepas em ordem crescente de inibição foram: $[\text{Ru}(\text{mcbtz})(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$ (1,0 mm), $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{dppb})]$ (1,0mm), $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (1,0mm), $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ (2,0 mm), $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mcbtz})(\text{PPh}_3)_2]$ (2,0mm), mcbtz (2,5mm), $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mctz})(\text{PPh}_3)_2]$ (3,0mm) e $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ (3,0mm), respectivamente. Comparando-se as metodologias 1 e 2 para o complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ em cepas de *E. coli* observa-se que o mesmo possui atividade frente as duas metodologias e mostra-se ser um forte agente antimicrobiano. Os compostos que demonstraram possuir melhor atividade contra *B. subtilis* em ordem crescente de inibição foram, mctz, $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mcbtz})(\text{PPh}_3)_2]$, $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{dppb})]$, $[\text{Ru}(\text{mcbtz})(\kappa^2\text{-P,P-DPEphos})]$, $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{mctz})(\text{PPh}_3)_2]$, $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ e mcbtz, respectivamente. Verifica-se que na metodologia 2 a maioria dos compostos apresentaram atividade.

Bergamini, F. e colaboradores reportaram o estudo da atividade antibacteriana contra cepas de *E. coli* e *S. aureus* utilizando um complexo binuclear de Paládio contendo ligante 2-mercaptotiazolina – o complexo com fórmula $[\text{Pd}_2(\text{mctz})_4]$, não demonstrou ter atividade contra as bactérias. O estudo teve o mesmo método e tempo de incubação deste trabalho. No entanto, não apresentou atividade.

Pesquisas realizadas por C.S.Allardyce e colaboradores usando complexos rutênio-areno, com fórmula $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{X}_2(\text{pta})]$ (X= Cl, Br, I e NCS) (pta = 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantano) foram testados contra cepas de bactérias *Eschericia coli*, *Bacilos subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e contra alguns tipos de fungos *Candida albicans*, *Cladosporium resinae* e *Trichrophyton mentagrophytes*, a metodologia empregada é análoga a metodologia 1 deste trabalho.

Os resultados para o halo de inibição das não apresentou ser muito promissor, na **Figura 63** é ilustrado o halo de inibição para dois compostos 5: $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{pta})]$ e 7: $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{I}_2(\text{pta})]$. De todos os compostos estudados apenas o composto 7 mostrou possuir uma atividade pequena ou mínima frente a bactérias *B. subtilis*. O composto 5 apresentou um halo de inibição de 2mm para o fungo *C. resinae*. Nesse estudo os autores acreditam que existe uma correlação da atividade dos complexos com o tipo de ligante (X) presente. Pois o composto 5 inibiu o crescimento do fungo e o composto 7 inibiu levemente o crescimento da bactéria.

Porém, não é possível comparar essa inibição, pois se trata de microrganismos diferentes. No entanto, um comparativo entre a atividade de inibição do composto 7 ($[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{I}_2(\text{pta})]$) com os compostos estudados neste trabalho (metodologia

1), observa-se nitidamente que complexos como $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{dppb})]$, $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ possuem uma inibição maior e promissora frente a *B. subtilis*. Além do complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ apresentar atividade de inibição para a bactéria *B. subtilis*, também apresenta atividade para a outra bactéria *E. coli*, isso não é evidenciado para o composto 7 e para nenhum dos outros compostos do trabalho de C.S.Allardyce e colaboradores, demonstrando que os complexos deste estudo apresentam preliminarmente melhor atividade do que os da literatura ²⁹.

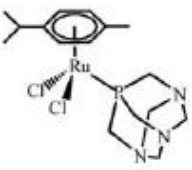
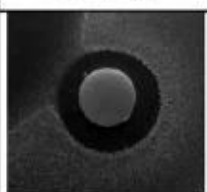
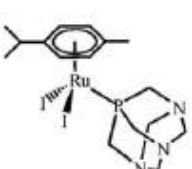
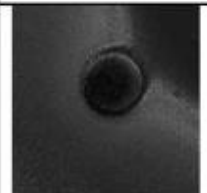
Number	Compound	Antimicrobial activity	
		Strain	Activity
5		<i>C. resinae</i>	 (2 mm)
7		<i>B. subtilis</i>	

Figura 62 - Atividade antimicrobiana de compostos reportados por C.S.Allardyce [36].

Em um estudo de atividade antibacteriana utilizando cepas de *B. subtilis* e *E. coli* realizado por N.Thilagavathi e C. Jayabalakrishnan com complexos de rutênio (III) com ligantes mistos contendo trifenilfosfina / trifenilarsina e 3,4-di-hidropirimidina-2- (1-tiona) representados na **Figura 10** da introdução deste trabalho, analisou-se o ensaio em duas concentrações dos compostos: 0,5 e 1,0% e observou que a inibição aumentou com o aumento da concentração, fato esse também reportado no nosso estudo. Os pesquisadores desse estudo propuseram que o mecanismo de atuação dos complexos para inibir o crescimento das bactérias deve-se à alteração do processo de respiração celular que impede ainda mais o crescimento do microrganismo ³⁶.

Nas **Figuras 64 e 65** estão demonstrados os antibiogramas dos halos de inibição do complexo $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e da gentamicina (controle + de halo).

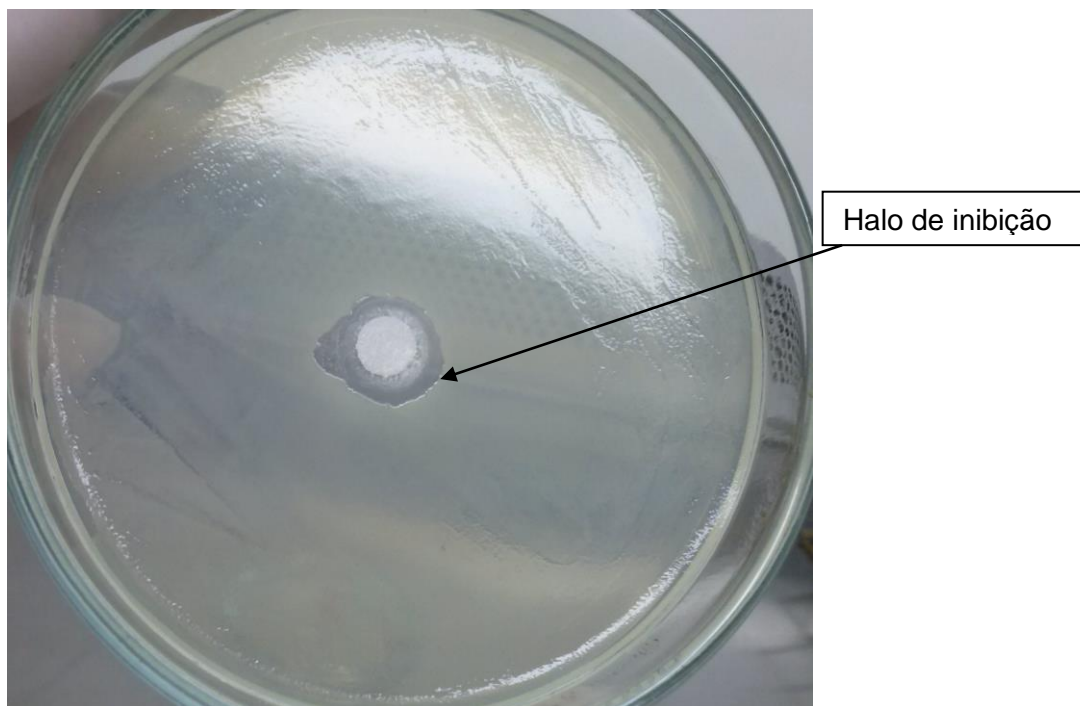


Figura 63 - Foto do Halo de inibição do complexo $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ em bactérias de *B. Subtilis* na concentração de 0,5% (metodologia 2).

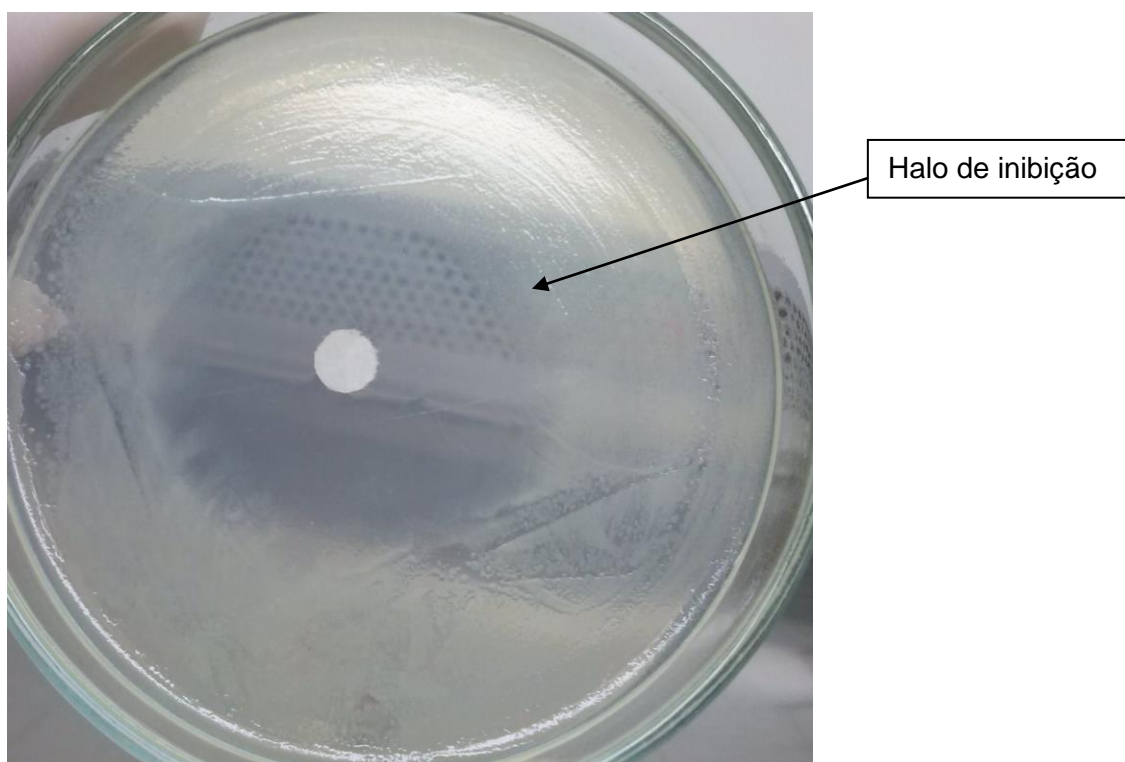


Figura 64 - do Halo de inibição da gentamicina (controle +) em bactérias *E. coli*.

5.0. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados 8 complexos inéditos com diferentes ligantes fosfínicos, em dois deles com monóxido de carbono coordenado ao rutênio.

As análises de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^1H foram úteis na identificação estrutural dos compostos e mostraram que os ligantes estavam coordenados ao centro metálico.

A diferença de pKa dos ligantes é um dos fatores que explica a diferença nos deslocamentos químicos nos espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. E também, explica a interação do CO nos espectros vibracionais do infravermelho para os complexos $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ e $[\text{RuCl}(\text{mcbtz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$.

A estrutura de raios X confirmou a estrutura proposta $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, onde os dois átomos de fósforo estão mutuamente em posição *cis* e em *trans* em relação aos átomos de nitrogênio.

As medidas de voltametria cíclica para todos os complexos apresentaram apenas um processo reversível atribuído ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$.

Para os testes de reatividade dos complexos com monóxido de carbono apenas o complexo com fórmula $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)]$ foi isolado. Entretanto, os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e espectroscopia vibracional na região do infravermelho também demonstram a reatividade do composto $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ na presença de CO.

Os testes antitumorais preliminares mostraram-se satisfatórios. O complexo $[\text{RuCl}(\text{mctz})(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$ pode ser considerado específico para as células MCF-7 e A458.

Os testes antibacterianos demonstraram resultados promissores. O complexo $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{dppb})]$ foi o qual apresentou melhor atividade de inibição para as cepas de bactérias *B. subtilis* e *E. coli*. Além disso, pode ser observado que os complexos estudados são mais específicos para células procariontes do que eucariontes, também demonstrando a baixa citotoxicidade para células eucariontes, o que é muito importante para estudos de compostos como possíveis agentes quimioterápicos.

REFERÊNCIAS

1. Rosenberg, B.; Van Camp, L.; Krigas, T., Inhibition of Cell Division in Escherichia coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature* **1965**, *205* (4972), 698-699.
2. Gasser, G.; Metzler-Nolte, N., The potential of organometallic complexes in medicinal chemistry. *Current Opinion in Chemical Biology* **2012**, *16* (1-2), 84-91.
3. Jakupec, M. A.; Galanski, M.; Arion, V. B.; Hartinger, C. G.; Keppler, B. K., Antitumour metal compounds: more than theme and variations. *Dalton Transactions* **2008**, *0* (2), 183-194.
4. Reedijk, J., Mechanistic Studies of Pt and Ru Compounds with Antitumor Properties. In *Medicinal Inorganic Chemistry*, American Chemical Society: 2005; Vol. 903, pp 80-109.
5. Zhang, C. X.; Lippard, S. J., New metal complexes as potential therapeutics. *Current Opinion in Chemical Biology* **2003**, *7* (4), 481-489.
6. Cohen, S. M., New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry. *Current Opinion in Chemical Biology* **2007**, *11* (2), 115-120.
7. Ronconi, L.; Sadler, P. J., Using coordination chemistry to design new medicines. *Coordination Chemistry Reviews* **2007**, *251* (13-14), 1633-1648.
8. Fontana, G.; Abbate, M.; Casella, G.; Pellerito, C.; Longo, A.; Ferrante, F., Synthesis, chemical characterization and preliminary in vitro antitumor activity evaluation of new ruthenium(II) complexes with sugar derivatives. *Polyhedron* **2011**, *30* (10), 1671-1679.
9. Schwietert, C. W.; McCue, J. P., Coordination compounds in medicinal chemistry. *Coordination Chemistry Reviews* **1999**, *184* (1), 67-89.
10. Wong, E.; Giandomenico, C. M., Current status of platinum-based antitumor drugs. *Chem. Rev.* **1999**, *99* (9), 2451-2466.
11. Fontes, A. P. S.; Almeida, S. G. d.; Nader, L. d. A., Compostos de platina em quimioterapia do câncer. *Química Nova* **1997**, *20*, 398-406.
12. Neves, A. P. V., M. D., Complexos de Platina(II) na Terapia do Câncer. *Revista Virtual de Química* **2011**, *3* 196-209.
13. Shriver, D.; Atkins, P., *Inorganic Chemistry*. W. H. Freeman: 2006.
14. Brabec, V.; Nováková, O., DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy* **2006**, *9* (3), 111-122.
15. Kamatchi, T. S.; Chitrapriya, N.; Lee, H.; Fronczek, C. F.; Fronczek, F. R.; Natarajan, K., Ruthenium(II)/(III) complexes of 4-hydroxy-pyridine-2,6-dicarboxylic acid with PPh₃/AsPh₃ as co-ligand: Impact of oxidation state and co-ligands on anticancer activity in vitro. *Dalton Transactions* **2012**, *41* (7), 2066-2077.
16. Farrell, N., Platinum Anticancer Drugs: From Laboratory to Clinic. In *Medicinal Inorganic Chemistry*, American Chemical Society: 2005; Vol. 903, pp 62-79.
17. Serment-Guerrero, J.; Cano-Sanchez, P.; Reyes-Perez, E.; Velazquez-Garcia, F.; Bravo-Gomez, M. E.; Ruiz-Azuara, L., Genotoxicity of the copper antineoplastic coordination complexes casiopeinas®. *Toxicology in Vitro* **2011**, *25* (7), 1376-1384.
18. Allardyce, C. S.; Dyson, P. J., Ruthenium in Medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects. *Platinum Metals Review* **2001**, *45* (2), 62-69.
19. Clarke, M. J., Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coordination Chemistry Reviews* **2003**, *236* (1-2), 209-233.
20. Clarke, M. J.; Bitler, S.; Rennert, D.; Buchbinder, M.; Kelman, A. D., Reduction and Subsequent Binding of Ruthenium Ions Catalyzed by Subcellular Components. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1980**, *12* (1), 79-87.
21. Sava, G.; Clerici, K.; Capozzi, I.; Cocchietto, M.; Gagliardi, R.; Alessio, E.; Mestroni, G.; Perbellini, A., Reduction of lung metastasis by ImH[trans-RuCl₄(DMSO)Im]: mechanism of the selective action investigated on mouse tumors. *Anticancer Drugs* **1999**, *10* (1), 129-38.

- 22.(a) Ang, W. H.; Daldini, E.; Juillerat-Jeanneret, L.; Dyson, P. J., Strategy To Tether Organometallic Ruthenium–Arene Anticancer Compounds to Recombinant Human Serum Albumin. *Inorg. Chem.* **2007**, *46* (22), 9048-9050; (b) Beirith, A.; Creczynski-Pasa, T. B.; Bonetti, V. R.; Konzen, M.; Seifriz, I.; Paula, M. S.; Franco, C. V.; Calixto, J. B., Antinociceptive properties and nitric oxide synthase inhibitory action of new ruthenium complexes. *Eur. J. Pharmacol.* **1999**, *369* (3), 289-297; (c) Cetinbas, N.; Webb, M.; Dubland, J.; Walsby, C., Serum-protein interactions with anticancer Ru(III) complexes KP1019 and KP418 characterized by EPR. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2010**, *15* (2), 131-145; (d) Golfeto, C. C.; Poelhsitz, G. V.; Selistre-de-Araújo, H. S.; Araujo, M. P. d.; Ellena, J.; Castellano, E. E.; Lopes, L. G. L.; Moreira, I. S.; Batista, A. A., Synthesis, characterization and cytotoxic activities of the [RuCl₂(NO)(dppp)(L)]PF₆ complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2010**, *104* (5), 489-495; (e) Nazarov, A. A.; Risse, J.; Ang, W. H.; Schmitt, F.; Zava, O.; Ruggi, A.; Groessl, M.; Scopelitti, R.; Juillerat-Jeanneret, L.; Hartinger, C. G.; Dyson, P. J., Anthracene-Tethered Ruthenium(II) Arene Complexes as Tools To Visualize the Cellular Localization of Putative Organometallic Anticancer Compounds. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (6), 3633-3639; (f) Sathiya Kamatchi, T.; Chitrapriya, N.; Kim, S. K.; Fronczek, F. R.; Natarajan, K., Influence of carboxylic acid functionalities in ruthenium (II) polypyridyl complexes on DNA binding, cytotoxicity and antioxidant activity: Synthesis, structure and in vitro anticancer activity. *Eur J Med Chem* **2012**, *59C*, 253-264; (g) Von Poelhsitz, G.; Bogado, A. L.; de Araujo, M. P.; Selistre-de-Araujo, H. S.; Ellena, J.; Castellano, E. E.; Batista, A. A., Synthesis, characterization, X-ray structure and preliminary in vitro antitumor activity of the nitrosyl complex fac- RuCl₃(NO)(dppf) , dppf=1,1'-bis(diphenylphosphine)ferrocene. *Polyhedron* **2007**, *26* (16), 4707-4712.
23. Keppler, B. K.; Berger, M. R.; Heim, M. E., New tumor-inhibiting metal complexes. *Cancer Treatment Reviews* **1990**, *17* (2–3), 261-277.
24. Brindell, M.; Piotrowska, D.; Shoukry, A. A.; Stochel, G.; van Eldik, R., Kinetics and mechanism of the reduction of (ImH) trans-RuCl₄(dmsO)(Im) by ascorbic acid in acidic aqueous solution. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2007**, *12* (6), 809-818.
25. Hartinger, C. G.; Dyson, P. J., Bioorganometallic chemistry—from teaching paradigms to medicinal applications. *Chemical Society Reviews* **2009**, *38* (2), 391-401.
26. Hartinger, C. G.; Dyson, P. J., Bioorganometallic chemistry—from teaching paradigms to medicinal applications. *Chem Soc Rev* **2009**, *38* (2), 391-401.
27. Navarro, M.; Lehmann, T.; Cisneros-Fajardo, E. J.; Fuentes, A.; Sánchez-Delgado, R. A.; Silva, P.; Urbina, J. A., Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases.: Part 5. Synthesis and characterization of new Ru(II) and Ru(III) clotrimazole and ketoconazole complexes and evaluation of their activity against Trypanosoma cruzi. *Polyhedron* **2000**, *19* (22–23), 2319-2325.
28. Lindoso, J. A.; Lindoso, A. A., Neglected tropical diseases in Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* **2009**, *51* (5), 247-53.
29. Allardyce, C. S.; Dyson, P. J.; Ellis, D. J.; Salter, P. A.; Scopelliti, R., Synthesis and characterisation of some water soluble ruthenium(II)–arene complexes and an investigation of their antibiotic and antiviral properties. *J. Organomet. Chem.* **2003**, *668* (1–2), 35-42.
30. Sánchez-Delgado, R. A.; Navarro, M.; Pérez, H.; Urbina, J. A., Toward a Novel Metal-Based Chemotherapy against Tropical Diseases. 2. Synthesis and Antimalarial Activity in Vitro and in Vivo of New Ruthenium– and Rhodium–Chloroquine Complexes. *Journal of Medicinal Chemistry* **1996**, *39* (5), 1095-1099.
31. Sanchez-Delgado, R. A.; Lazard, K.; Rincon, L.; Urbina, J. A.; Hubert, A. J.; Noels, A. N., Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases. 1. Enhancement of the efficacy of clotrimazole against Trypanosoma cruzi by complexation to ruthenium in RuCl₂(clotrimazole)₂. *Journal of Medicinal Chemistry* **1993**, *36* (14), 2041-2043.
32. Sanchez-Delgado, R. A.; Anzellotti, A., Metal complexes as chemotherapeutic agents against tropical diseases: trypanosomiasis, malaria and leishmaniasis. *Mini Rev Med Chem* **2004**, *4* (1), 23-30.

- 33.Silva, J. J.; Osakabe, A. L.; Pavanelli, W. R.; Silva, J. S.; Franco, D. W., In vitro and in vivo antiproliferative and trypanocidal activities of ruthenium NO donors. *Br J Pharmacol* **2007**, *152* (1), 112-121.
- 34.Donnici, C. L.; Araújo, M. H.; Oliveira, H. S.; Moreira, D. R. M.; Pereira, V. R. A.; de Assis Souza, M.; de Castro, M. C. A. B.; Leite, A. C. L., Ruthenium complexes endowed with potent anti-*Trypanosoma cruzi* activity: Synthesis, biological characterization and structure–activity relationships. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17* (14), 5038-5043.
- 35.Casini, A.; Mastrobuoni, G.; Terenghi, M.; Gabbiani, C.; Monzani, E.; Moneti, G.; Casella, L.; Messori, L., Ruthenium anticancer drugs and proteins: a study of the interactions of the ruthenium(III) complex imidazolium trans-[tetrachloro(dimethyl sulfoxide)(imidazole)ruthenate(III)] with hen egg white lysozyme and horse heart cytochrome c. *J Biol Inorg Chem* **2007**, *12* (8), 1107-17.
- 36.Thilagavathi, N.; Jayabalakrishnan, C., Synthesis, characterization, catalytic and antimicrobial studies of ruthenium(III) complexes. *Cent. Eur. J. Chem* **2010**, *8* (4), 842-851.
- 37.Bolhuis, A.; Hand, L.; Marshall, J. E.; Richards, A. D.; Rodger, A.; Aldrich-Wright, J., Antimicrobial activity of ruthenium-based intercalators. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2011**, *42* (4), 313-317.
- 38.do Nascimento, F. B.; Von Poelhsitz, G.; Pavan, F. R.; Sato, D. N.; Leite, C. Q. F.; Selistre-De-Araujo, H. S.; Ellena, J.; Castellano, E. E.; Deflon, V. M.; Batista, A. A., Synthesis, characterization, X-ray structure and in vitro anti mycobacterial and antitumoral activities of Ru(II) phosphine/diimine complexes containing the "SpymMe(2)" ligand, SpymMe(2)=4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2008**, *102* (9), 1783-1789.
- 39.Sandbhor, U.; Padhye, S.; Billington, D.; Rathbone, D.; Franzblau, S.; Anson, C. E.; Powell, A. K., Metal complexes of carboxamidrazone analogs as antitubercular agents: 1. Synthesis, X-ray crystal-structures, spectroscopic properties and antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2002**, *90* (3–4), 127-136.
- 40.Pavan, F. R.; Poelhsitz, G. V.; do Nascimento, F. B.; Leite, S. R. A.; Batista, A. A.; Deflon, V. M.; Sato, D. N.; Franzblau, S. G.; Leite, C. Q. F., Ruthenium (II) phosphine/picolinate complexes as antimycobacterial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *45* (2), 598-601.
- 41.(a) Ng, S. Y.; Leong, W. K.; Goh, L. Y.; Webster, R. D., Synthesis, X-ray Crystal Structures and Electrochemistry of (Indenyl)ruthenium Complexes Containing dppf and Heterocyclic Thiolato/Thione Ligands. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2008**, *2008* (1), 144-151; (b) Raper, E. S., Complexes of heterocyclic thionates .1. Complexes of monodentate and chelating ligands. *Coordination Chemistry Reviews* **1996**, *153*, 199-255.
- 42.Betz, A.; Yu, L.; Reiher, M.; Gaumont, A.-C.; Jaffrès, P.-A.; Gulea, M., (N,N) vs. (N,S) chelation of palladium in asymmetric allylic substitution using bis(thiazoline) ligands: A theoretical and experimental study. *J. Organomet. Chem.* **2008**, *693* (15), 2499-2508.
- 43.Busacca, C. A.; Dong, Y.; Spinelli, E. M., A one step synthesis of thiazolines from esters. *Tetrahedron Letters* **1996**, *37* (17), 2935-2938.
- 44.Fernandez, X.; Fellous, R.; Duñach, E., Novel synthesis of 2-thiazolines. *Tetrahedron Letters* **2000**, *41* (18), 3381-3384.
- 45.Mohammadpoor-Baltork, I.; Moghadam, M.; Tangestaninejad, S.; Mirkhani, V.; Hojati, S. F., Supported 12-tungstophosphoric acid as heterogeneous and recoverable catalysts for the synthesis of oxazolines, imidazolines and thiazolines under solvent-free conditions. *Polyhedron* **2008**, *27* (2), 750-758.
- 46.Souza, M. V. N. d.; Ferreira, S. B.; Mendonça, J. S.; Costa, M.; Rebello, F. R., Métodos de obtenção e aplicações sintéticas de tiazóis, uma importante classe de compostos heterocíclicos. *Química Nova* **2005**, *28*, 78-83.
- 47.(a) Akrivos, P. D., Recent studies in the coordination chemistry of heterocyclic thiones and thionates. *Coordination Chemistry Reviews* **2001**, *213*, 181-210; (b) Kumar, P.; Yadav, M.; Singh, A. K.; Pandey, D. S., Synthesis and characterization of some novel ruthenium(II) complexes containing thiolate ligands. *J. Organomet. Chem.* **2010**, *695* (7), 994-1001; (c)

- Lobana, T.; Verma, R.; Singh, R.; Castineiras, A., The chemistry of pyridine thiols and related ligands, Part 6. The crystal and molecular structure of [1,3-bis(diphenylphosphino)propane][bis(pyridine-2-thiolato)]ruthenium(II). A comparison with solution phase behaviour. *Transition Metal Chemistry* **1997**, *23* (1), 25-28; (d) Lobana Tarlok, S.; Kaur, P.; Castineiras, A., Synthesis, spectroscopy and structure of cis , cis , trans : N , N ; P , P ; S , S - bis (triphenylphosphine) bis (pyrimidine-2-thiolato)ruthenium(II). *Journal of Coordination Chemistry* **2005**, *58* (5), 429-435; (e) Lobana, T. S.; Kaur, P.; Kaur, A.; Butcher, R. J., Metal Derivatives of Heterocyclic-2-thiones: Crystal Structures of [Bis(diphenylphosphanyl)propane][bis(pyrimidine-2-thiolato)]ruthenium(II) and [Bis(diphenylphosphanyl)methane][bis(pyridine-2-thiolato)]ruthenium(II). *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie* **2012**, *638* (1), 195-200; (f) Rabie, U. M.; Abou-El-Wafa, M. H. M.; Nassar, H., Interaction of thiazolidine-2-thione with 2,3,5,6-tetrabromo-1,4-benzoquinone: A set of sequential interactions involving redox and substitution reactions after an initial charge transfer complexation. *Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr.* **2012**, *86*, 252-255; (g) Raper, E. S., Complexes of heterocyclic thione donors. *Coordination Chemistry Reviews* **1985**, *61*, 115-184; (h) Rosenfield, S. G.; Swedberg, S. A.; Arora, S. K.; Mascharak, P. K., SYNTHESIS, PROPERTIES, AND THE STRUCTURE OF TETRAETHYLAMMONIUM TRIS(PYRIDINE-2-THIOLATO)FERRATE(II) - AN EXAMPLE OF AN EXCEPTIONALLY SHORT BITE OF THE LIGAND. *Inorg. Chem.* **1986**, *25* (13), 2109-2114.
- 48.Raper, E. S.; Britton, A. M.; Creighton, J. R., Thermal analysis of heterocyclic thione donor complexes: Part VII. Palladium(II) and platinum(II) complexes of thizole-thiolates. *Thermochimica Acta* **1989**, *146* (0), 241-249.
- 49.Dehand, J.; Jordanov, J., Complexes of Pt(II), Pd(II), Rh(I) and Rh(III) with nitrogen and sulfur-containing heterocyclic ligands of biological interest. Synthesis, characterization and influence of pH. *Inorg. Chim. Acta* **1976**, *17* (0), 37-44.
- 50.Sousa-Pedrares, A.; Durán, M. L.; Romero, J.; García-Vázquez, J. A.; Monteagudo, J. C.; Sousa, A.; Dilworth, J. R., Synthesis and characterization of ruthenium and osmium complexes of heterocyclic bidentate ligands (N,X), X=S, Se. *Inorg. Chim. Acta* **2006**, *359* (3), 863-876.
- 51.Pregnotato, M.; Terreni, M.; Ubiali, D.; Pagani, G.; Borgna, P.; Pastoni, F.; Zampollo, F., 3H-[1,2]Dithiolo[3,4-b]pyridine-3-thione and its derivatives Synthesis and antimicrobial activity. *Il Farmaco* **2000**, *55* (11-12), 669-679.
- 52.Eliana Maira Agostini Valle, F. B. d. N., Antonio Gilberto Ferreira e Alzir A. Batista, Marcos Cláudio Rodrigues Monteiro e Sérgio de Paula Machado, Javier Ellena, Eduardo E. Castellano e Eduardo Ribeiro de Azevedo, Sobre um degenerescência acidental nos deslocamentos químicos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ em complexos difosfínicos de rutênio *Química Nova* **2008**, *31* (4), 807-812.
- 53.Vogler, A.; Kunkely, H., Excited state properties of transition metal phosphine complexes. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, *230* (1-2), 243-251.
- 54.Tolman, C. A., Steric effects of phosphorus ligands in organometallic chemistry and homogeneous catalysis. *Chem. Rev.* **1977**, *77* (3), 313-348.
- 55.Cavarzan, D. A. Síntese, Caracterização e Atividade Catalítica de Complexos de Rutênio (II) com Carbonilas, Fosfinas, Aminas, Iminas e Hidretos. . Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, 2010.
- 56.Batista, S. L. Q. e. A. A., Complexos Fosfínicos e suas aplicações na medicina. *Química Nova* **1996**, *19* (6), 651-659.
- 57.Armarego, W. L. F.; Perrin, D. D., Purification of Laboratory Chemicals (4th Edition). Elsevier: 1997.
- 58.Sejas, L. M.; Silbert, S.; Reis, A. O.; Sader, H. S., Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* **2003**, *39*, 27-35.

59. Hallman, P. S.; Stephenson, T. A.; Wilkinson, G., Tetrakis(triphenylphosphine)dichlororuthenium(II) and tris(triphenylphosphine)-dichlororuthenium(II). *Inorganic Syntheses* **1970**, *12*.
60. Gomez-Benitez, V.; Olvera-Mancilla, J.; Hernandez-Ortega, S.; Morales-Morales, D., High yield carbonylation of $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ using dimethylformamide (DMF) as convenient source of CO. The X-ray crystal structure of $[\text{RuCl}_2(\text{CO})(\text{DMF})(\text{PPh}_3)_2]$. *Journal of Molecular Structure* **2004**, *689* (1-2), 137-141.
61. Venkateswaran, R.; Mague, J. T.; Balakrishna, M. S., Ruthenium(II) complexes containing bis(2-(diphenylphosphino)phenyl) ether and their catalytic activity in hydrogenation reactions. *Inorg. Chem.* **2007**, *46* (3), 809-817.
62. Raper, E. S.; Britton, A. M.; Creighton, J. R., Thermal analysis of heterocyclic thione donor complexes: Part VI. Palladium(II) and platinum(II) complexes of thiazole-thiones. *Thermochimica Acta* **1989**, *140* (0), 343-353.
63. Bohlig, H.; Ackermann, M.; Billes, F.; Kudra, M., Vibrational analysis of benzothiazoline-2-thione. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **1999**, *55* (13), 2635-2646.
64. Thornton, D. A., Metal complexes of pyridine: infrared and raman spectra with particular reference to isotopic labelling studies. *Coordination Chemistry Reviews* **1990**, *104* (2), 251-295.
65. Colthup, N. B.; Daly, L. H.; Wiberley, S. E., *Introduction to infrared and Raman spectroscopy*. Academic Press: 1990.
66. Abbehausen, C.; Castro, J. F.; Spera, M. B. M.; Heinrich, T. A.; Costa-Neto, C. M.; Lustri, W. R.; Formiga, A. L. B.; Corbi, P. P., Synthesis, spectroscopic characterization, DFT studies and biological assays of a novel gold(I) complex with 2-mercaptothiazoline. *Polyhedron* **2011**, *30* (13), 2354-2359.
67. Muth, A.; Walter, O.; Huttner, G.; Asam, A.; Zsolnai, L.; Emmerich, C., Eine einfache synthese von tripod-liganden $\text{H}_3\text{CC}(\text{CH}_2\text{PAr}_2)_3$: Anwendungsbreite und komplexchemie. *J. Organomet. Chem.* **1994**, *468* (1-2), 149-163.
68. (a) Serp, P.; Hernandez, M.; Richard, B.; Kalck, P., A Facile Route to Carbonylhalogenometal Complexes (M = Rh, Ir, Ru, Pt) by Dimethylformamide Decarbonylation. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2001**, *2001* (9), 2327-2336; (b) Krassowski, D. W.; Nelson, J. H.; Brower, K. R.; Hauenstein, D.; Jacobson, R. A., Kinetic and thermodynamic stabilities of the geometric isomers of dicarbonyldichlorobis(tertiary phosphine)ruthenium and carbonyldichlorotris(tertiary phosphine)ruthenium complexes. *Inorganic Chemistry* **1988**, *27* (23), 4294-4307.
69. Chang, C.-F.; Chang, C.-Y.; Höll, W., Investigating the adsorption of 2-mercaptothiazoline on activated carbon from aqueous systems. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, *272* (1), 52-58.
70. LAMPMAN, G. M.; PAVIA, D. L.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R., *INTRODUÇÃO A ESPECTROSCOPIA*. CENGAGE.
71. Queiroz, S. L.; Batista, A. A.; Oliva, G.; do Pi. Gambardella, M. T.; Santos, R. H. A.; MacFarlane, K. S.; Rettig, S. J.; James, B. R., The reactivity of five-coordinate Ru(II) (1,4-bis(diphenylphosphino)butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(o-pyridyl)amine, 1,10-phenanthroline, 4,7-diphenylphenanthroline and ethylenediamine. *Inorg. Chim. Acta* **1998**, *267* (2), 209-221.
72. Kotz, J. C.; Treichel, P.; WEAVER, G. C., *Química geral e reações químicas*. Cengage Learning.
73. Allen, F. H.; Kennard, O.; Watson, D. G.; Brammer, L.; Orpen, A. G.; Taylor, R., Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1987**, *0* (12), S1-S19.
74. Knupp, V. F.; Nicesio, I. C.; Queiroz, F. d. M.; Matos, R. M.; Passos, B. d. F. T., Síntese e caracterização estrutural de complexos mono e bimetálicos de paládio e platina com ligantes contendo nitrogênio e enxofre. *Química Nova* **1997**, *20*, 382-387.

75. Batista, A. A.; Santiago, M. O.; Donnici, C. L.; Moreira, I. S.; Healy, P. C.; Berners-Price, S. J.; Queiroz, S. L., Electrochemical and spectroscopic studies on $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N})_2$ and $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N}-\text{N})$ complexes (N=pyridine derivatives and N-N=phenanthroline or bipyridine derivatives). X-ray structure of $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{phen})$. *Polyhedron* **2001**, 20 (17), 2123-2128.
76. Frazão Barbosa, M. I.; Valle, E. M. A.; Queiroz, S. L.; Ellena, J.; Castellano, E. E.; Malta, V. R. S.; de Sousa, J. R.; Piro, O.; de Araujo, M. P.; Batista, A. A., On the synthesis and structures of the complexes $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{dppb})(\text{N}-\text{N})]\text{PF}_6$ (L=�=�CO, py or 4-NH₂py; dppb=�=�1,4-bis(diphenylphosphino)butane; N-N=�=�2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline) and $[(\text{dppb})(\text{CO})\text{Cl}_2\text{-Ru-pz-RuCl}_2(\text{CO})(\text{dppb})]$ (pz=�=�pyrazine). *Polyhedron* **2010**, 29 (11), 2297-2303.
77. Xu, Q., Metal carbonyl cations: generation, characterization and catalytic application. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, 231 (1-2), 83-108.
78. Adams, H.; Coffey, A. M.; Morris, M. J., Coordination of 4-mercapto-1,2-dithiole-3-thione heterocycles to ruthenium(II) and molybdenum(VI) centres. *Inorg. Chim. Acta* **2010**, 363 (1), 173-178.
79. Heinrich, T. A.; Von Poelhsitz, G.; Reis, R. I.; Castellano, E. E.; Neves, A.; Lanznaster, M.; Machado, S. P.; Batista, A. A.; Costa-Neto, C. M., A new nitrosyl ruthenium complex: Synthesis, chemical characterization, in vitro and in vivo antitumor activities and probable mechanism of action. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 46 (9), 3616-3622.
80. Ludwig, G.; Kaluđerović, G. N.; Bette, M.; Block, M.; Paschke, R.; Steinborn, D., Highly active neutral ruthenium(II) arene complexes: Synthesis, characterization, and investigation of their anticancer properties. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2012**, 113 (0), 77-82.